

# 耕牛日本血吸虫病粪便孵化 诊断法研究工作综述

江苏省农业科学研究所畜牧兽医研究室

粪便孵化诊断法(简称粪孵法)是检验耕牛血吸虫病和考核疗效的依据。经过多年来的实践证明,原有的粪孵法阳性检出率比较低,操作程序比较烦琐,因此,有必要进行试验研究,以求改进和提高。本文对几年来有关单位的试验研究资料,分日本血吸虫与粪孵诊断有关的生物学特性,操作方法的改进和工具的改革两方面内容,做了简要的论述。

## 粪孵诊断有关日本血吸虫的 生物学特性

1. 虫卵的适宜孵化温度:江苏省耕牛血防小分队1973年采用水牛阳性粪便进行试验,水温10—29℃之间分为11个组,发现在14—29℃间的9个组中,毛蚴最早孵出时间在一个小时以内,开始出现多量毛蚴的时间为一小时半,因而认为自然室温和水温在上述试验温度范围内,无需特殊处理,即可进行孵化。1974年该小分队又以黄牛阳性粪便进行试验,将出现的毛蚴立即用吸管移出,统计孵出率:19—21℃和22—24℃两组孵出率最高;16—18℃和25—27℃两组次之;13—15℃和28—30℃两组第三,31—33℃一组最差,30℃以上的水温对虫卵的孵化有抑制作用。昆山耕牛血防小分队的试验结果证明,20—22℃和23—25℃两组孵出率最高,17—19℃和26—28℃次之,与上述结果接近。上海农业科学院等单位以人工感染血吸虫病的水牛的阳性粪便进行重复试验,结果以23—25℃和26—28℃两组孵出率最高;17—19℃和20—22℃两组次之;29—31℃一组最差,与前述结果的趋向基本一致。

上述试验结果找出虫卵孵化的适宜温度,这对粪孵法的改进是一个重要的依据。将孵化温度修订为22—26℃,室温在20℃以上时,无需加温,可直接孵化。这样做,既可提高检出率,又可节省大量燃料和保温设备。

2. 毛蚴最早孵出时间和多量毛蚴出现时间的观察:江苏省耕牛血防小分队1973年的试验中观察到,在14—29℃的水温内,毛蚴最早出现时间为11—50分钟,多量毛蚴出现时间在15—85分钟。1974年的试验结果表明:在13—30℃的水温中毛蚴最早孵出时

间为8—40分钟;19—27℃的三组水温中孵化至第4小时的孵出率在82%以上,至第6小时在94%以上,至第7小时达98.8%以上。1975年重复试验结果基本一致。吴江县耕牛血防小分队观察到,当水温在15—30℃时,毛蚴最早出现的时间为20—75分钟。上海农业科学院等单位报道,在17—28℃的水温中,毛蚴最早孵出时间为25—60分钟,孵出的毛蚴数以第2和第3小时为最多,第3小时的平均孵出率在60%以上,第6小时为90%左右。

原粪孵法规定,水温在23℃以上时,洗粪用水应用1.0—1.2%的食盐水,以防止毛蚴过早逸出。但从上述试验结果来看,在较低的水温中,毛蚴最早孵出时间均在1小时之内,而洗粪和沉淀换水过程需经历100分钟以上,这样势必有许多化验样品中已孵出的毛蚴随换水过程倾出,以致产生许多病牛漏检情况。因此,规定在15℃以上时洗粪用水应加盐处理,以抑制毛蚴过早孵出而随水倒去,这就有利于提高检出率。

3. 毛蚴的存活时间:将刚孵出的毛蚴移入试管中,每个试管1个毛蚴,水浴控制温度,每小时观察一次毛蚴存活数。江苏省耕牛血防小分队报道,在22—25℃和28—30℃两试验组的毛蚴均在孵出后2小时开始下沉或死亡,前一组的最长存活时间为14小时,后一组为4小时。上海农业科学院等单位,在20—25℃水温中观察了60个毛蚴,发现第3小时开始死亡,至6小时存活率为41.66%,7小时存活率为15%,10小时存活1个毛蚴,占1.66%,11小时全部消失。安徽农学院以5—12℃的水温进行试验,至第21小时毛蚴完全消失。在较低的温度下,有较长时间不见毛蚴活动,但适量加温时,毛蚴恢复游动,故非真正死亡。

综合上述观察结果可以看出:在虫卵适宜的孵化温度范围内,毛蚴自孵出后第2—3小时后开始消失,同时结合前述第6小时的毛蚴孵出率均在90%以上的情况来看,现场查病时在样品进孵后的6小时内,应进行多次观察,以防漏检。

4. 粪便中虫卵存活及孵出毛蚴的时间:在南京的气温条件下,9月所取得的水牛强阳性粪便装在玻璃瓶中,用培养皿覆盖放置在室内,隔日取样化验一次,直至10月底仍能孵出少量毛蚴,虫卵存活时间达32

天之久;又将阳性粪样分别保存于9℃冷库、19—26℃室温和32℃温箱中,结果冷库和室温保存者至第4天毛蚴数仍未见减少,温箱保存者第2天毛蚴即开始减少,第4天的虫卵孵化率为62%。

以往的粪孵法要求采取当天的新鲜粪便立即送往检验地点进行化验,以三送三检而言,要连续送三天的粪样,现场查病时有的生产队相距很远,甚为不便。现根据上述试验结果,虫卵的存活时间较长,可以设想在春秋季节查病时,可聚存连续三天采集的粪样一次送检,这样做可节省大量的送粪劳力。

5. 光线与通风对虫卵孵化的影响:上海农业科学院在1974年的试验证明,光照强弱、通风好坏对毛蚴的检出有一定影响。在较好的光照和通风的条件下,毛蚴的检出率较高。江苏农学院的试验结果与此基本一致,认为光线不足或孵化瓶中与空气接触的液面过小,均能影响毛蚴的孵出率。江苏省耕牛血防小分队在试验中观察到,光线能促进虫卵的孵化,但通风与否似乎无明显的影响。上海农业科学院1975年重复试验的结果提出:光照组毛蚴的总数比无光照组高三倍多至四倍多,认为光照对耕牛血吸虫病粪孵诊断是个重要条件;通风与否则不是需要考虑的条件。

6. 日本血吸虫在牛体内排卵规律的观察:上海农业科学院以人工感染(500条尾蚴)和自然感染血吸虫病的黄牛各一头进行观察,从1972年至1973年,每周两次采粪化验,发现在冬季粪孵时毛蚴数均比其他季节明显减少,说明在冬季牛粪孵化检出率低,并非牛粪排出后在低温环境中储存时间太久或孵化温度太低所致,可能与牛粪中所含血吸虫卵数较少有关。江苏省耕牛血防小分队由非疫区引进水牛10头,每头牛感染尾蚴3,000条。从1972年至1974年每周二、四、六进行三次粪孵,根据孵出毛蚴数的变化来探索血吸虫排卵的季节性变化,试验结果证明:粪孵毛蚴减少的时间多在9月至11月,而粪孵阴性时间多在11月至1月;转阴后复阳的时间多在1月份;复阳后毛蚴数逐渐增多的时间在4月至7月份。试验中第6、19和17号牛直至剖检时虽分别持续阴性70、57和139天,但仍分别检获虫体4、14和156条。此外,受试牛粪便孵化转阴期间,采用一次排出的粪便2000余克进行19次化验,也未发现毛蚴。因此认为,粪检阴性并非体内无虫,而是排卵极少或者不排卵。

过去有的单位一年进行数遍病牛普查工作,在冬季为了孵化还建造许多土温室,消耗了大量人力物力,但是如能掌握血吸虫的排卵规律,选择最能查出病畜的季节开展查病工作,便可收到事半功倍的效果。

## 操作方法和工具改革

1. 粪检次数与阳性检出率的关系:江苏省耕牛血防小分队,从1970年至1972年先后在昆山等六个

县、市的十个公社,普查检出的阳性牛进行三粪三检的复查,检出17.5—46.8%的阳性牛;又以复检的阳性牛再行三送三检化验。结果也只能检出61.7—72.2%的阳性牛;以九送九检查出的病牛作100%计算,三送三检的检出率为64%,六送六检的检出率为92%。在一送多检以及多送多检的试验中,以一送二至六检与二送二检至六送六检进行比较,85头牛的二至六检共计化验425个样品,一送多检出现阳性341次,阳性率为80.2%;多送多检出现阳性为348次,阳性率为81.9%。一送多检与多送多检的检出率之间的差异,经统计学分析,不显著。安徽省农林局等单位的试验结果表明,三送三检的检出率为六送六检的70%;四送四检的检出率为六送六检的93%。江西共产主义劳动大学等单位报道,三送六检和六送六检的检出率分别为66.07%和67.85%,经统计学分析差异不显著。浙江省农业科学院等单位的试验中,三送三检、一送六检,三送六检和六送六检的检出率分别为81.3%、81.3%、93.8%和87.5%,以三送六检的检出率为最高。江西省家畜防疫站和余江县农业局等八个单位分别试验结果,均与上述一致。

经过多年来反复治疗和积极预防的结果,血吸虫病的感染度显著下降。若以三送三检的要求查病,必然有许多轻度感染的病牛被漏检,必须增加检次才能提高检出率。但增加送粪次数十分不便,难以办到。一送多检可代替多送多检,提高检出率。

2. 尼龙筛淘洗孵化法:上海农业科学院将经40孔/时铜丝筛滤出的粪液,置于260孔/时的尼龙筛网兜内淘洗,代替沉淀换水的方法进行对比试验,检查病牛1,328头次,沉淀换水法阳性51头次,较尼龙筛法阳性74头次为低,毛蚴计数也以尼龙筛法为多。因此,尼龙筛法可缩短工序时间,避免器材损耗和节约用水,不需盐水淘洗,节约食盐。

3. 顶管法与试管法:四川省农业科学院(1973)利用500毫升的盐水瓶和胶塞,在胶塞上插入1厘米管径和10厘米长的玻管,制成顶管瓶,用以孵化和观察(简称顶管法)。湖北省家畜血防站用洗粪缸、木盖和试管组成洗粪和孵化用具,称为试管法。

顶管法和试管法的设计,基本性质相同,其目的都是利用比较简便的器材,取代常规的比较昂贵的量杯和三角烧瓶,使洗粪和孵化用具合一。目前这两种方法尚在进行试验和改进。

## 结 语

本专题的研究找出了虫卵适宜的孵化温度和一些影响孵化的因素,明确了毛蚴的孵出和存活时间,探索了成虫在牛体内的排卵规律,改革了工具和操作方法等方面的问题,为提高阳性检出率和节省人力物力提供了科学依据。