

中国动物血吸虫病 防治研究 (1990—2000)

农业部血吸虫病防治办公室
农业部血吸虫病防治专家咨询委员会 编
中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所

中国农业科学技术出版社

中国动物血吸虫病防治研究

(1990 ~ 2000)

农业部血吸虫病防治办公室

农业部血吸虫病防治专家咨询委员会

编

中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所

样 书

中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

中国动物血吸虫病防治研究: (1990~2000) /农业部血吸虫病防治办公室等编. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2005.9
ISBN 7-80167-852-4

I. 中… II. 农… III. 动物疾病: 血吸虫病 - 防治 - 研究 - 中国 - 1990~2000 IV. S855.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 107472 号

责任编辑
责任校对
出版发行
经 销
印 刷
开 本
印 数
版 次
定 价

杜 宏
马丽萍 张京红
中国农业科学技术出版社 邮编: 100081
新华书店北京发行所
北京奥隆印刷厂
787mm × 1092mm 1/16 印张: 36.5
1~1300册 字数: 930千字
2005年9月第1版, 2005年9月第1次印刷
60.00元

主 编 徐百万

副主编 林矫矫 李万有

参编人员 (以姓氏笔划为序)

毛光琼	王溪云	石耀军	刘恩勇	刘耀兴
阳爱国	李 浩	李克斌	李秀峰	朱家新
朱维琴	沈 纬	杨继宗	宋学林	吴宏春
吴国昌	陆 珂	张 强	张应国	张雪娟
施宝坤	施福恢	胡述光	卿上田	高式伟
钱承贵	曹晋蓉	彭立斌	曾宪光	喻 华
谢智明				

前 言

《中国动物血吸虫病防治研究》收集了自 1990 ~ 2000 年在国内外刊物上发表的动物血吸虫病防治研究的论文或报告共 171 篇，分七个部分，其内容包括动物血吸虫病基础理论、流行病学调查、诊断、治疗、预防和防治对策等方面的研究成果和成功经验，阐明了我国动物血吸虫病各个防治阶段的研究重点、主攻方向和取得的重大突破，充分反映了我国动物血吸虫病防治研究由单一的查治到以预防为主的综合治理，最后实现由投入型血防向效益型血防转变的历史进程，为广大血防工作者特别是农业血防工作者提供了普及与提高相结合、理论与实践相结合的动物血防技术丛书和广泛的参考资料，这对进一步搞好新时期农业血防工作，完成国家血防规划中农业系统承担的血防任务，最终在我国实现阻断血吸虫病传播的宏伟目标将发挥重要的作用。

《中国动物血吸虫病防治研究》在农业部血防办公室的关心和支持下，中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所组织有关专家，广泛收集了广大农业血防科研和防治工作者十年中潜心研究和不断总结积累起来的研究成果和丰富经验，分门别类地进行汇总编写并得到了农业部血防专家咨询委员会专家、教授的认真审阅，他们为此做了大量而细致的工作，付出了辛勤的劳动，在此一并致谢。

目 录

第一部分 动物血吸虫病基础理论研究

- 一、联合法冷冻保存日本血吸虫童虫的研究…………… 许绶泰 施福恢等 (3)
- 二、山羊体内日本血吸虫日排卵数的观察…………… 邱汉辉 刘跃兴等 (6)
- 三、猪日本血吸虫病毛蚴孵出时间的观察…………… 张咏梅 高金宝等 (9)
- 四、猪血吸虫感染一些生物学特性的观察…………… 刘跃兴 邱汉辉等 (11)
- 五、日本血吸虫人工感染动物试验时出现的生物学现象…………… 张峰山 杨继宗等 (13)
- 六、单克隆抗体对日本血吸虫尾蚴钻穿小鼠皮肤能力的影响…………… 叶 萍 田 镔等 (15)
- 七、猪日本血吸虫病自愈现象研究…………… 邱汉辉 刘跃兴等 (18)
- 八、用小鼠肠淋巴结淋巴细胞制备抗日本血吸虫单克隆抗体…………… 林矫矫 叶 萍等 (20)
- 九、日本血吸虫童虫冷冻保藏复苏后生活史循环的研究…………… 林邦发 汪英华等 (23)
- 十、日本血吸虫抗独特型单克隆抗体的建株及特性测定…………… 田 镔 叶 萍等 (28)
- 十一、抗日本血吸虫单克隆抗体的建立及特性测定…………… 林矫矫 叶 萍等 (32)
- 十二、云南日本血吸虫群体生物学的研究…………… 林邦发 林矫矫等 (37)
- 十三、中国大陆株日本血吸虫 23kD 基因重组抗原的研究——23kD 抗原大亲水区多肽
基因重组抗原的制备及抗原性测定…………… 林矫矫 M. C. Huggins 等 (43)
- 十四、中国大陆日本血吸虫同工酶谱的研究…………… 林邦发 田 镔等 (47)
- 十五、中国大陆不同地区日本血吸虫雄虫蛋白组分的研究…………… 田 镔 林邦发等 (51)
- 十六、中国大陆不同地区日本血吸虫虫卵抗原的比较研究…………… 傅志强 田 镔等 (56)
- 十七、编码中国大陆株日本血吸虫副肌球蛋白 C 端蛋白基因的克隆和
表达…………… 林矫矫 M. C. Huggins 等 (59)
- 十八、日本血吸虫抗原凝胶层析纯化与分析…………… 张雪娟 黄熙照等 (63)
- 十九、考湖杂交绵羊对日本血吸虫易感性的试验…………… 胡述光 卿上田等 (65)
- 二十、日本血吸虫中国大陆株 28kDa GST 基因在大肠杆菌中的
表达…………… 田 镔 杨冠珍等 (67)
- 二十一、日本血吸虫尾蚴分泌蛋白水解酶的初步研究…………… 钱应娟 张惠英 (72)
- 二十二、日本血吸虫 28kD GST 基因在家蚕细胞和幼虫中的表达…………… 田 镔 杨冠珍等 (75)
- 二十三、血吸虫阳性钉螺的冰箱保藏方法…………… 林邦发 (79)
- 二十四、日本血吸虫脂肪酸结合蛋白基因的克隆及其在大肠杆菌中的
表达…………… 蔡学忠 田 镔等 (81)
- 二十五、自然感染日本血吸虫病耕牛血清循环抗原消长规律的
研究…………… 叶 萍 傅志强等 (84)
- 二十六、日本血吸虫脂肪酸结合蛋白基因在家蚕细胞及幼虫中的
表达…………… 刘金明 蔡学忠等 (87)

二十七、日本血吸虫中国大陆株 22.6kD 膜相关蛋白基因的克隆及其在大肠杆菌中的高效表达	蔡学忠 林矫矫等	(90)
二十八、东方田鼠抗日本血吸虫病现象的观察	李浩 何艳燕等	(94)
二十九、日本血吸虫中国大陆株雌、雄成虫 cDNA 文库的构建	苑纯秀 李铭等	(98)
三十、日本血吸虫中国大陆株肌动蛋白编码基因的克隆和表达	朱建国 林矫矫等	(101)
三十一、血吸虫基因的性别特异性研究进展	朱建国	(105)
三十二、日本血吸虫中国大陆株 26kD GST 基因在大肠杆菌中的高效表达	刘金明 林矫矫等	(109)

第二部分 动物血吸虫病流行病学研究

一、江宁县新生洲家畜血吸虫病的防治	曹霄 邱汉辉等	(115)
二、涪江村生猪在血吸虫病传播中的作用	石中谷 胡述光等	(117)
三、四川山区家畜血吸虫病疫区的划分及流行病学研究	戴卓建 颜洁邦等	(121)
四、天长县家畜血吸虫病调查	彭立斌 吴宏春等	(125)
五、江苏句容县家畜及野生动物血吸虫感染普查情况初报	张治安 李正欣	(127)
六、湖南省岳阳麻塘血吸虫流行病学调查	戴一洪 朱鸿基等	(129)
七、洪涝水灾过后动物血吸虫病感染情况的调查和分析	刘志忠 凌彤等	(132)
八、日本血吸虫中间宿主钉螺的调查——江西永修吴城日本血吸虫病流行病学调查之二	邓水生 龚辉等	(134)
九、洞庭湖区生猪血吸虫病流行及危害情况的调查	胡述光 卿上田等	(137)
十、沙山养牛场黄牛血吸虫病的疫情报告	汪恭琪 杨正刚等	(139)
十一、太湖县宣布消灭家畜血吸虫病后十年又发生疫情的调查	蔡道南 邵永康等	(140)
十二、岳阳县麻塘垸山羊血吸虫病疫情调查	张强	(142)
十三、安徽省家畜血吸虫病抽点调查	彭立斌 吴宏春等	(144)
十四、从吴城血吸虫病流行情况看家畜血防的重要性和紧迫性	邓水生 余炉善等	(146)
十五、池州地区 1996 年度夏季洪灾后牛血吸虫病感染情况的调查	张银根 汪恭琪	(148)
十六、华容县羊群血吸虫病感染情况调查	卿上田 胡述光等	(150)
十七、益阳市芷湖口镇猪血吸虫病感染的调查	詹正清 谢腊青等	(152)
十八、1993~1995 年农业部动物血防观测点工作的实践	沈纬 钱承贵	(153)
十九、四川省丹棱县血吸虫病流行病学纵向观测点研究报告	毛光琼 谢智明等	(158)
二十、江西省都昌县周溪镇耕牛血吸虫病疫情调查	杨琳芬 吴国昌等	(163)
二十一、沅江市洪灾后水牛血吸虫病疫情调查报告	冯安良 王文科等	(165)
二十二、水牛血吸虫重复感染及其影响因素的研究	刘恩勇 荣德智等	(167)
二十三、德阳等地动物血吸虫病疫情回升情况调查	阳爱国 江朝元	(171)
二十四、新建县洪水前后监测点耕牛血吸虫病感染率的调查与分析	徐志明 刘继文等	(173)
二十五、四川省目前动物血吸虫病流行特点与防治措施	阳爱国 谢智明等	(176)
二十六、1993~1998 年东流镇动物血防观测点纵向观察	王志俊 吴宏春等	(179)

- 二十七、湖南省沅江市双丰乡动物血吸虫病疫情调查 冯安良 曾少才等 (185)
- 二十八、1993~1999年麻塘垅牛羊血吸虫病疫情动态调查 张 强 卿上田等 (188)

第三部分 动物血吸虫病诊断技术研究

- 一、黄牛日本血吸虫病三种诊断方法比较 刘跃兴 吴椿年 (195)
- 二、粪孵法诊断猪日本血吸虫病不同用粪量检出率比较 徐雪萍 张咏梅等 (196)
- 三、环卵沉淀试验诊断猪血吸虫病的实验观察 钱存忠 张咏梅等 (198)
- 四、环卵试验诊断山羊日本血吸虫病实验简报 刘跃兴 钱存忠等 (200)
- 五、粪孵法诊断山羊血吸虫病不同粪量检出率比较 张观斗 张咏梅等 (202)
- 六、用单克隆抗体 Dot-ELISA 检测日本血吸虫感染牛兔的血清循环抗原 叶 萍 林矫矫等 (203)
- 七、家畜血吸虫、肝片吸虫和锥虫病三联诊断液研究初报 张雪娟 王一成等 (205)
- 八、斑点酶联 SPA 诊断动物血吸虫病的研究 张雪娟 王一成等 (208)
- 九、单克隆抗体 Dot-ELISA 现场诊断日本血吸虫病 张 军 田 镔等 (211)
- 十、直接法 McAb-Dot-ELISA 检测日本血吸虫感染耕牛血清循环抗原的研究 叶 萍 张 军等 (213)
- 十一、PAPS 快速诊断液与“一血两检”诊断血吸虫病和锥虫病 谢邦海 葛英惠 (215)
- 十二、三联诊断液检测耕牛“三虫病”的效果观察 曾耀勇 (218)
- 十三、血纸免疫斑点酶标法检测牛血吸虫病的研究 张雪娟 王一成等 (222)
- 十四、直接法单克隆抗体酶联免疫吸附试验和常规酶联免疫吸附试验诊断耕牛日本血吸虫病的比较 叶 萍 林矫矫等 (224)
- 十五、斑点酶标株联快诊膜盒的研究与应用 张雪娟 王一成等 (227)
- 十六、用间接血凝试验诊断牛血吸虫病和锥虫病 胡洪明 彭文先等 (229)
- 十七、用间接血凝反应和环卵沉淀试验诊断耕牛日本血吸虫病 应长沅 许平荣 (231)
- 十八、间接血凝试验调查不同地区耕牛日本血吸虫病的报告 卿上田 胡述光等 (233)
- 十九、粪孵法对自然感染日本血吸虫牛检出率效果的评价 沈 杰 (235)
- 二十、抗独特型抗体 Dot-ELISA 检测实验感染绵羊和家兔日本血吸虫病 田 镔 林矫矫等 (238)
- 二十一、单克隆抗体 Dot-ELISA 诊断日本血吸虫病的扩大试验 邵永康 蔡道南等 (240)
- 二十二、单克隆抗体斑点酶联免疫吸附试验调查羊血吸虫病 朱春霞 卿上田等 (242)
- 二十三、诊断家畜日本血吸虫病的两种方法比较 章 文 (243)
- 二十四、顶罐孵化法和间接血凝血纸法诊断耕牛血吸虫病的效果及费用研究 余炉善 邓水生等 (245)
- 二十五、耕牛日本血吸虫病粪孵诊断法的进展 钱承贵 石耀军等 (248)
- 二十六、Dot-ELISA 联检牛和羊 4 种寄生虫病技术的研究 张雪娟 孙仁寅等 (250)
- 二十七、动物血吸虫病诊断技术的应用 李万有 (252)
- 二十八、应用间接血凝血纸法诊断家畜血吸虫病初探 方金华 喻 华等 (256)
- 二十九、应用酶标 SPA Dot-ELISA 同时检测牛羊血吸虫病和肝片

吸虫病	张雪娟	孙仁寅等	(258)
三十、重度感染日本血吸虫兔粪便虫卵孵化毛蚴试验	林邦发	陈永军等	(260)
三十一、家畜血吸虫肝片吸虫锥虫病联合诊断技术对比试验	宋灿明	邵永康	(262)
三十二、湖北省耕牛三种寄生虫病的血清流行病学联合调查	刘恩勇	罗永香等	(264)
三十三、牛羊四种寄生虫病联合诊治技术的研究与应用	张雪娟	孙仁寅等	(267)

第四部分 动物血吸虫病治疗技术研究

一、肌肉注射吡喹酮治疗奶牛血吸虫病	凌孝甫	毛官元等	(273)
二、吡喹酮治疗猪日本血吸虫病试验	刘跃兴	张咏梅等	(274)
三、“7505”与吡喹酮治疗奶牛血吸虫病的对比试验	刘振华	王红斌等	(275)
四、吡喹酮注射液治疗猪日本血吸虫病试验	胡述光	李景上等	(276)
五、应用吡喹酮第三胃投药治疗牛日本血吸虫病	舒宏民	陈鑫生等	(279)
六、硝硫氰醚静脉注射液治疗黄牛血吸虫病的效果	胡述光	李景上等	(281)
七、吡喹酮第三胃投药和口服治疗水牛血吸虫病的试验及应用	夏德维		(283)
八、硝硫氰醚、吡喹酮治疗猪血吸虫病研究	颜洁邦	杨明富等	(285)
九、水牛实验血吸虫病的药物治疗效果比较	施福恢	沈 纬等	(287)
十、合并用药驱除牛血吸虫、肝片吸虫的试验	谢智明		(291)
十一、单克隆抗体和吡喹酮协同杀伤日本血吸虫的初步研究	叶 萍	田 钙等	(295)
十二、吡喹酮治疗耕牛血吸虫病疗效观察	刘杏海		(298)
十三、吡喹酮肌肉注射液治疗山羊实验感染日本血吸虫病研究	林邦发	施福恢等	(300)
十四、吡喹酮肌肉注射制剂治疗实验感染家兔和牛日本血吸 虫病	施福恢	沈 纬等	(304)
十五、IgM 单抗体内、外杀伤日本血吸虫的研究	林矫矫	叶 萍等	(308)
十六、吡喹酮对考湖杂交绵羊血吸虫病的疗效试验	胡述光	张 强等	(312)
十七、硝硫氰醚混悬水溶液治耕牛血吸虫病的疗效及反应	喻 华	李成亮等	(314)
十八、吡喹酮缓释剂治疗小鼠日本血吸虫病的试验	叶 萍	陈永军等	(316)
十九、吡喹酮粉剂和片剂防治水牛血吸虫病效果比较研究	袁兆康	张 强等	(319)
二十、吡喹酮治疗牛血吸虫病的效果与临床反应	曾宪光	彭迪武等	(322)
二十一、吡喹酮化疗耕牛血吸虫病投药方法探讨	杨琳芬	喻 华等	(324)
二十二、应用吡喹酮粉治疗耕牛血吸虫病副反应及防治措施	毛光琼	江朝元	(326)
二十三、九〇安对吡喹酮化疗牛血吸虫病副反应的抑制试验	王庭林		(328)
二十四、吡喹酮复合用药对耕牛血吸虫病的疗效研究	吴国昌	江映平等	(330)

第五部分 动物血吸虫病预防技术研究

一、日本血吸虫冷冻童虫苗免疫绵羊试验	许绶泰	施福恢等	(335)
二、应用冷冻保存辐照童虫苗和冻融童虫苗免疫接种牛预防日本血 吸虫病	许绶泰	施福恢等	(338)

三、IgG ₁ 型单克隆抗体和吡喹酮协同预防日本血吸虫病的研究	叶 萍	施福恢等	(346)
四、国际血吸虫病疫苗研制最新进展		许绶泰	(349)
五、抗独特型抗体和吡喹酮协同预防绵羊日本血吸虫病的研究	叶 萍	汪英华等	(353)
六、中国大陆株日本血吸虫 23kD 基因重组抗原的研究——重组的 23KD 抗原大亲水区多肽对小鼠的免疫试验	林矫矫	田 镠等	(356)
七、日本血吸虫谷胱甘肽 S-转移酶小鼠免疫试验	林矫矫	田 镠等	(359)
八、日本血吸虫副肌球蛋白小鼠免疫试验	林矫矫	田 镠等	(363)
九、日本血吸虫重组抗原 Sj GST Paramyosin 和 Sj 23 对绵羊的保护性免疫 试验	施福恢	沈 纬等	(366)
十、口服抗原疫苗预防小鼠日本血吸虫病的初步试验	陈永军	叶 萍等	(370)
十一、含日本血吸虫可溶性抗原及重组 GST 的免疫刺激复合物对小鼠的 免疫试验	刘金明	王 美等	(373)
十二、日本血吸虫 (中国大陆株) 基因工程疫苗的研究	施福恢	吴祥甫等	(377)
十三、日本血吸虫冻融童虫苗和提纯抗原苗对水牛的免疫保护 试验	石耀军	施福恢等	(381)
十四、重组日本血吸虫中国大陆株 28ku GST 免疫刺激复合物对小白鼠的 免疫试验	刘金明	叶 萍等	(383)
十五、口服青蒿琥酯预防耕牛血吸虫病效果观察	徐 红	刘继文等	(386)
十六、重组日本血吸虫中国大陆株脂肪酸结合蛋白的动物免疫 试验	蔡学忠	林矫矫等	(389)

第六部分 动物血吸虫病防治策略与“四个突破”技术研究

一、家畜血吸虫病综合防治效果观察	吴椿年	单兴盛	(395)
二、湖沼地区家畜血吸虫病调查及防制对策	钱承贵	石耀军等	(398)
三、家畜血吸虫病防治工作的地位与对策		胡述光	(401)
四、以灭源为主综合治理血吸虫病	沈红升	雷家全等	(405)
五、三种类型优化防制血吸虫病对策研究	曾宪光	王庆坡等	(408)
六、大山区家畜血吸虫病流行性调查及防制对策	钱承贵	石耀军等	(412)
七、家畜血吸虫病化疗中值得探讨的几个问题		杨琳芬	(416)
八、人畜共患的血吸虫病防治策略		卿上田	(418)
九、农业血防与提高农业综合生产力	刘光玉	宋佩琴等	(419)
十、关于农业血防宏观管理中几个问题的探讨	刘光玉	宋佩琴等	(424)
十一、安徽湖滨乡以拖拉机代替耕牛防止家畜血吸虫病	张克琪	吴祚衡等	(428)
十二、湖区水渠型地区优化防治对策研究	曾宪光	李克斌等	(429)
十三、提高吡喹酮治疗耕牛血吸虫病效果的几点意见		钱承贵	(431)
十四、湖区草食家畜发展与日本血吸虫病主要传染源控制		王镜清	(433)
十五、洞庭湖区生猪血吸虫病流行病学及防制技术研究	胡述光	卿上田等	(435)
十六、湖南省家畜日本血吸虫病防制技术工作的回顾及优化当前的防制对策		胡述光	(439)

十七、家畜血吸虫病防治管理措施的探讨	魏桂斌 (443)
十八、湖北农业血防工作的战略思考	刘恩勇 (444)
十九、以控制家畜传染源为主的血防对策	王镜清 (449)
二十、加强对吡喹酮治耕牛血吸虫病的宏观调控	钱承贵 石耀军等 (452)
二十一、潜山县家畜血吸虫病防治现状及对策	王先节 (455)
二十二、四川省长丘山区动物血吸虫病疫情调查及防治措施	毛光琼 (457)
二十三、封洲禁牧、净化草洲、控制湖区血吸虫病的研究	王溪云 王小红等 (460)
二十四、农业血防的现状及要研讨的几个问题	沈 伟 钱承贵 (464)
二十五、调整农业种植结构对灭螺效果观察	赵树林 袁对松等 (471)
二十六、结合农业生产灭螺预防血吸虫病的效果观察	刘恩勇 袁对松等 (473)
二十七、平原湖区开挖精鱼池灭螺效果试验	雷家全 沈汉泽等 (476)
二十八、我国江湖洲滩血吸虫病控制对策的思考和议	王溪云 王小红 (478)

第七部分 动物血吸虫病国际合作研究

VACCINATION AGAINST BOVINE SCHISTOSOMIASIS JAPONICA WITH HIGHLY X - IRRADIATED SCHISTOSOMULA	S. Y. LI HSÜ H. F. HSÜ (487)
VACCINATION OF BOVINES AGAINST SCHISTOSOMIASIS JAPONICA WITH HIGHLY IRRADIATED SCHISTOSOMULA IN CHINA	S. Y. LI HSÜ ¹ S. T. XU (492)
Evaluation of defined antigen vaccines against <i>Schistosoma bovis</i> and <i>S. japonicum</i> in bovines	M. Bashir Q. Bickle (503)
<i>Schistosoma japonicum</i> : some parameters affecting the development of protective immunity induced by a cryopreserved, irradiated schistosomula vaccine in guinea-pigs	S. XU F. SHI and H. WU (508)
Activated macrophages in highly irradiated cercariae-induced immunity to <i>Schistosoma</i> <i>japonicum</i> in rats	C. XU S. XU (512)
Vaccination of bovines against <i>Schistosomiasis japonica</i> with cryopreserved-irradiated and freeze-thaw schistosomula	Shoutai Xu Fuhui Shi (522)
Vaccination of sheep against <i>Schistosoma japonicum</i> with either glutathione S-transferase, keyhole limpet haemocyanin or the freeze/thaw schistosomula/BCG vaccine	Shoutai Xu Fuhui Shi (533)
Evaluation on protective effects of three kinds of <i>Schistosoma japonicum</i> antigens against schistosomiasis in farm animal	F. SHI J. LIN (543)
Production and testing of <i>Schistosoma japonicum</i> candidate vaccine antigens in the natural ovine host	Martin G. Taylor Maureen C. Huggins (549)
Prevalence and distribution of pig helminths in the Dongting Lake Region (Hunan Province) of the People's Republic of China	J. Boes A. L. Willingham III (562)
编 后	(572)

第一部分

动物血吸虫病基础理论研究

一、联合法冷冻保存日本血吸虫童虫的研究

许绶泰, 施福恢, 付力成, 武 华

(中国农业科学院上海家畜寄生虫病研究所)

James (1981) 首先提出了冷冻保存曼氏血吸虫的乙二醇二步加入速冻法, Stirewalt 等 (1984) 认为该法很好, 但培养大量童虫并加以冷冻却有困难, 因此作了改良。我们采用该二氏的基本方法, 结合本实验室条件, 用乙二醇二步加入速冻法保存日本血吸虫童虫的研究中, 取得了解冻后形态正常并活动的童虫最多占 44.68% 的试验结果。在此基础上, 进一步找出了本文报道的“联合法”。此法可以培养大量童虫, 并可在冰冻状态下进行童虫的辐照。

1 材料和方法

日本血吸虫尾蚴来源和童虫制作方法均如前文报道 (见《中国兽医科技》1989, 8)。将浓缩为 5ml 的童虫培养液, 从中取出 1ml, 用作为计数冷冻前童虫数。余 4ml 作为冷冻用。冷冻前童虫数的计算法为抽出 $2 \times 20\mu\text{l}$ 样本镜检所得童虫数乘以 25, 即为 1ml 内的童虫数。

在室温下浓缩童虫悬浮液 4ml 成为 1ml, 加预热至 37°C 的 20% 乙二醇培养液 (20% ED-ELAC) 1ml, 使其成为 10% ED-ELAC 2ml, 用旋涡振荡器混匀, 在 37°C 水浴锅中搁置 10 分钟, 然后在冰浴上预冷 5 分钟, 再加预冷至 0°C 的 60% ED-ELAC 2ml, 用旋涡振荡器混匀, 使成 35% ED-ELAC 4ml, 在冰浴上搁置, 10 分钟沉淀后, 吸去上清 2ml, 将余下的 2ml 悬浮液用旋涡振荡器混匀, 精确地分成 4 部分, 每一部分含 0.5ml, 按下列 4 种方法速冻于液氮中: ①铝盘法: 仿制一小铝盘, 有盖, 装 0.5ml 童虫悬浮液, 直接速冻于液氮罐吊桶之一。②一滴法: 用 $20\mu\text{l}$ 移液器, 滴 1 滴于冷冻片 (用长盖玻片切成 3 小长片制成), 共 25 片, 合 0.5ml, 全部放入 50ml 聚丙烯冷冻管内, 置液氮罐吊桶之一速冻。③六滴法 (联合法): 用 $20\mu\text{l}$ 移液器滴 6 滴于长盖玻片上, 共 4 片, 合 0.5ml, 全部放入 50ml 聚丙烯冷冻管内, 置液氮吊桶之一速冻。④三滴法: 用 $20\mu\text{l}$ 移液器滴 3 滴于小冷冻片 (装法如上), 共 9 片, 合 0.5ml, 全部放入 50ml 聚丙烯冷冻管内, 速冻于液氮吊桶之一。

每种方法冷冻童虫的解冻, 都用预热至 41°C 的 150ml ELAC, 激烈振荡 10sec, 随即放入 37°C 水浴锅内 10min。将每种方法的 150ml ELAC 童虫悬浮液分装于 4 个 50ml 玻璃硅化离心管内, 用 RS-20 II 型离心机在室温 (22°C) 以 $1000\text{r}/\text{min}$ 离心 10min, 每管弃上清, 留 1ml, 用旋涡振荡器充分混匀后, 每管各用移液器吸出 2 个 $20\mu\text{l}$ 样本, 在载玻片上镜检, 如前计算解冻后的童虫数。

显微镜下用 200 倍检查。统计形态正常而活动的童虫, 形态正常而不活动的童虫, 以及形态不正常不动的死亡童虫数。鉴定指标见《中国兽医科技》1989, 8。

2 结果

日本血吸虫童虫冷冻前和 4 种方法冷冻解冻后镜检结果详见表 1。由表 1 可以看出, 回收童虫总数以联合法 (六滴法) 和三滴法为多, 分别为 $1994/\text{ml}$ 和 $2282/\text{ml}$ 。一滴法回收童虫最小 ($788/\text{ml}$), 铝盘法也比较少 ($1488/\text{ml}$)。

活动童虫的百分数以联合法最高 (58.6%), 铝盘法和一滴法次之, 分别为 39.5% 和

40.0%，都接近于冷冻前的活动童虫百分数（43.29%）。三滴法最低（26.0%）。

死童虫的百分数冷冻前为 10.40%，用各种方法冷冻后都有所增加。其中联合法最低，为 18.8%，低于铝盘法（23.1%），三滴法 29.3%。一滴法最差，高达 34.1%。

四种冷冻方法比较结果，根据多列样本百分率的 RXC 表 χ^2 测验，差异非常显著（ $P < 0.01$ ）。

表 1 日本血吸虫童虫冷冻前和 4 种方法冷冻解冻后镜检结果

冷冻方法	抽样号	形态正常		形态不正常， 不动，死亡	童虫数
		活动 (%)	不动 (%)		
冷冻前	1	45.16	27.42	27.42	124
	2	39.25	52.80	7.49	214
	3	43.91	51.30	4.78	230
	4	60.71	39.29	0	28
	平均	43.29	46.31	10.40	149
铝盘法	1	47.8	37.7	14.5	69
	2	38.2	43.6	18.2	55
	3	33.3	35.1	31.6	57
	4	36.8	33.3	29.8	57
	平均	39.5	37.4	23.5	59.5
一滴法	1	47.2	22.2	30.6	36
	2	46.2	34.6	19.2	26
	3	26.9	26.9	46.2	26
	4	39.5	21.0	39.5	38
	平均	40.0	25.4	34.1	31.5
联合法	1	55.0	27.0	17.0	89
	2	70.3	15.6	14.1	64
	3	60.0	18.7	21.3	75
	4	52.7	26.4	20.9	91
	平均	58.6	22.6	18.8	80
三滴法	1	28.4	44.6	27.0	74
	2	30.8	39.3	29.9	117
	3	29.8	38.6	31.6	57
	4	17.9	53.0	29.1	117
	平均	26.0	44.7	29.3	91.3

注：冷冻前及 4 种方法冷冻后的童虫数均为 40 μ l 童虫悬液计数结果，4 种冷冻方法均为 1988 年 10 月 21 日冷冻，25 日解冻，共冷冻 4 昼夜。

3 讨论

冷冻童虫诸方法的效果，涉及的因素较多，故较难掌握。本文报告的结果是进行了多次预备试验后进行的，因此较为可靠。显微镜检查的判定指标分形态正常的活动童虫，形态正常而不动的童虫以及形态不正常、不动的死童虫，可避免主观因素的误差。

本试验用 20 μ l 移液器取样时，混匀悬浮液内童虫虽借助于旋涡振荡器，有时仍不可能绝对准确，会产生一些误差，如冷冻前的第 4 次抽样童虫特别少。但纵观全部数据，仍不失

可比较的价值。

冷冻前的童虫总数 (3 725/ml) 比效果最优的冷冻方法回收多的童虫总数 (1 994/ml) 还多得多。换言之, 冷冻造成了童虫损失。除这次试验外, 在别处也经常观察到这种现象。我们认为冷冻前和冷冻后解冻时随所用器皿粘附造成的损失肯定难以避免。但冷冻前后器皿粘附童虫的问题, 使用硅化法后仍未完全解决, 拟进一步研究。至于冷冻过程是否会造成部分童虫溶解消失, 至今没有证明, 也无法排除其可能性。

用联合法冷冻复苏的活动童虫百分数高达 58.6%, 比冷冻前的 43.29% 还高些, 可能也和取样误差有关。但每一个抽样的活动童虫百分率都高, 因此推测 41℃ 的解冻液, 除具有解冻复苏童虫的作用外, 是否还有刺激童虫暂时性活动增加的作用。

联合法 (六滴法) 既遵循了 James 应用乙二醇二步加入速冻法的原理, 也应用了他的冷冻片和冷冻管, 只是冷冻小片为大型盖玻片和冷冻小管为 50ml 大型聚丙烯管, 从而改变了他的“一滴法”为“六滴法”, 同时采用了 Stirewalt 的解冻方法而不用铝盘。因此, 既有 Stirewalt 法的有利于冷冻较多童虫的优点, 又有 James 法的有利于在冷冻情况下进行辐照的长处, 所以称之为“联合法”。此法看来有实际应用的价值。

“联合法”比“铝盘法”更有利于冷冻和解冻的速度, 而根据前人的研究, 这一点恰是冷冻血吸虫童虫的技术关键。铝盘法冷冻前加盖, 特别是解冻前脱盖都会影响速度。“联合法”每片滴 6 滴, 比“一滴法” (用很多片) 和“三滴法” (多用一倍片) 都更有利于冷冻解冻的速度而减少差错。

原载于《中国兽医科技》1990, No.6, 33 ~ 35

二、山羊体内日本血吸虫日排卵数的观察

邱汉辉, 刘跃兴

(江苏省畜牧局)

高金宝, 张咏梅, 施宝坤

(南京农业大学兽医系)

各种寄生虫由于虫株不同等原因, 其排卵数有所不同。猪蛔虫每条雌虫每天可排卵 10 万~20 万个, 多时甚至可达 26 万个, 而姜片虫则为 15 000~25 000 个。寄生虫的日排卵量的研究, 对于诊断流行病学以及防制等均有很重要意义。为此我们以山羊为模型, 对日本血吸虫进行了日排卵量的观察, 报道如下。

1 试验材料和方法

1.1 试验山羊 6 头, 由日本血吸虫非疫区引进, 年龄 1 岁, 体重 9~27kg, 4 头雄性, 2 头雌性。

1.2 阳性钉螺, 由江苏省寄生虫病研究所提供。

1.3 试验方法: 6 头试验羊任意分为 3 组, 第一组 (1、2 号) 接种尾蚴数为 50 ± 10 条; 第二组 (3、4 号) 接种 100 ± 10 条, 第三组 (5、6 号) 接种 200 ± 10 条, 接种后粪孵尚均为阴性, 第 35 天则均为阳性, 40 天进行试验, 每头羊称取粪便 5g, 以常规尼龙袋淘洗于 26℃ 下孵化, 每隔 2h 倒去上清水一次, 加 3% 福尔马林固定计数毛蚴, 直至未出现毛蚴为止; 分别称重 24h 排粪量, 然后进行扑杀冲虫, 称取肝总重量, 将肝加水以组织捣碎机捣碎, 计算肝的总虫卵数。

2 试验结果

2.1 5g 羊粪便的毛蚴数 1 至 6 号分别为 725、36、49、92、86 及 852 个, 详见表 1。

表 1 5g 羊粪便毛蚴数

羊号	次数	一	二	三	四	合计
	毛蚴数					
1	392	285	48	0	725	
2	11	20	5	0	36	
3	10	37	2	0	49	
4	29	60	3	0	92	
5	42	36	8	0	86	
6	270	168	44	0	825	

2.2 羊 24h 排粪量统计, 每 12h 称取粪便一次, 结果 1 至 6 号羊, 粪便重分别为 195g、580g、200g、350g、325g 及 195g, 详见表 2。