

圆形盘尾丝虫微丝蚴的检获 及其形态学观察

成源达 叶立云 肖兵南 曾衡秀
(湖南省畜牧兽医研究所)

摘要

本试验作了5头阳性黄牛颈静脉血溶血集虫检查和251头黄牛的耳血片的镜检，均未找到圆形盘尾丝虫微丝蚴，从皮肤分离则检获。用130头黄牛的皮肤检查，其检出率为76.92%。其中屠宰场66头黄牛，血液中未查到该微丝蚴，而取颈垂部皮肤组织分离，有58头牛是阳性，并符合剖检阳性的98.30%。水牛33头，皮肤分离与剖检均为阴性；用台氏液和生理盐水作分离培养液，其分离出微丝蚴的数量，前者是后者的2.5倍且分离也高20%，离体牛皮经-2℃～34℃七种温度处理4小时，均能分离出微丝蚴。将皮肤组织保存在台氏液中，放入4℃冰箱中，11天后，仍然能分离得到微丝蚴。微丝蚴在牛体各部位皮肤中的分布，以腹中线，肩峰，颈垂，前臂的密度大；从皮肤分离出来的微丝蚴其结构符合成虫子宫末端的微丝蚴，与Patnaik和Shastri的观察结果一致。

圆形盘尾丝虫(*Onchocerca armillata*)系寄生在黄牛的主动脉管内壁并引起动脉粥样硬化。该病广泛流行于非洲和南亚地区。据我国已报道的，湖南省黄牛阳性检出率为98.34%，湖北省黄牛阳性检出率为94.2%。但有关该虫微丝蚴的资料，我国迄今报道的极少。国外Patnaik(1962)是从牛颈静脉血中获得其微丝蚴，而Hatsukika(1961)Shastri(1978)Bvaide(1981)他们都是从牛皮肤分离到的，对于丝虫病的诊断，Manabu Sasa(1976)认为只有找到微丝蚴和掌握微丝蚴的鉴别特征才能作出正确的诊断。为了解本病在我国亚热带环境下的情况，黄牛的微丝蚴率、密度和分布以及微丝蚴在牛皮组织内的形态，以便给诊断本病提供依据。本试验对圆形盘尾丝虫微丝蚴的检获，不同培养液对牛皮分离的效果，皮肤组织经不同温度处理后对分离的影响以及牛体不同部位微丝蚴的密度进行了观察。现将研究结果报道如下：

材料和方法

一、试验材料

采样黄牛来源于长沙屠宰场，慈利县养牛场及本所从衡南县购回的4头试验黄牛，采取耳血，颈静脉血和皮肤为试验材料。

二、采样方法及材料处理

耳血：取60立方毫米，作厚血片3张，在常水中溶血，凉干，甲醇固定，姬姆萨氏染

* 李仲丘、史开财等同志参加了部分工作。长沙市五里牌冷冻加工厂、湖南省外贸局畜产品加工转运站、慈利县畜牧水产局、慈利县湘西黄牛场给予大力协助，中国科学院动物所陈淑敏为虫图复墨，特此一并致谢。

** 本文于1984年7月3日收稿。

色，70%乙醇分色，中性树胶封片。

颈静脉血：取阳性牛5头，分别采血5毫升，加0.1%碳酸钠液使其溶血，离心，镜检沉淀液。

皮肤组织：于颈垂部先剃毛，常规消毒后，切取500毫克（约1平方厘米）将组织剪碎后装入120目铜筛的贝尔曼氏装置中，加培养液淹盖组织，上盖凹面皿，置35℃恒温箱培养24小时，然后离心培养液，取其沉淀液镜检。对获得微丝蚴的一部分进行固定，染色、分色，封片，之后观察测量，描绘。

在颈垂部剃毛消毒后采皮7份，每份500毫克，分别置于消毒过的培养皿中，各在-2℃，-1℃，3℃，6℃，12℃，24℃，34℃处理4小时再分别进行分离镜检。

屠宰场的黄牛和本所的试验黄牛，均先采血，后采皮，最后屠宰取其主动脉管，以上均按牛按号登记。

三、培养液

选用台氏Tyrode液和生理盐水作培养分离液，两液均需高压灭菌，临用前加青、链霉素各100单位/毫升。

结 果

一、血液及皮肤中的微丝蚴

本试验共采黄牛血251头次，制厚血片502张，未发现圆形盘尾丝虫微丝蚴。取130头黄牛的皮肤作贝尔曼氏分离，检出率为76.92%，其中屠宰场的66头黄牛，血液中未查到微丝蚴，经颈垂部皮肤分离有58头检获到微丝蚴，占检验中的87.87%，并符合剖检阳性率的98.30%。水牛33头，皮肤分离及剖检均为阴性。另外在宰前采取颈静脉血，选取宰后剖检为阳性的5头黄牛，进行溶血离心镜检，未发现微丝蚴。我所试验黄牛4头于1983年9月上旬，每日早、中、晚各采耳血一次，作厚血片观察连续一周除找到腹腔丝虫微丝蚴外，未发现本虫的微丝蚴。其中经皮肤分离检获微丝蚴的2头黄牛，剖检核对为阳性。见表1。

表1 牛的解剖检查和皮肤分离结果

畜 别	剖检数	剖 检 结 果				分 离 结 果			
		阳性数	%	阴性数	%	阳性数	%	阴性数	%
黄牛	66	59	89.39	7	10.61	58	87.87	8	12.13
水牛	33			33				33	100

二、两种培养液的分离结果

对10头黄牛的颈垂部皮肤，在同样条件下，采用台氏液和生理盐水两种培养液分别进行分离，其结果，生理盐水分离率为80%，且分离获得的微丝蚴大部分丧失其活动力。台氏液分离率为100%，分离出微丝蚴的数量为生理盐水的2.5倍，分离获得的微丝蚴87%有活力。见表2。

三、离体黄牛皮经不同温度处理后的分离结果

选择最高室温以下的7种温度处理阳性牛皮4小时，得到的结果证明，从-2℃到

34℃的温度范围均能分离到微丝蚴。另外在冰箱4℃条件下，皮肤保存在台氏液中11天仍能分离微丝蚴；34℃室温下加保存液存放在无菌培养皿中，3天分离效果仍然显著，见表3。

表2 两种培养液分离微丝蚴的结果

培养液	头数	分离率%	微丝蚴	
			范围	平均
台氏液	10	100	5—1151	171.78
生理盐水	10	80	0—389	69.11

表3 不同温度处理4小时后分离出的微丝蚴数

温度℃	-2	-1	3	6	12	24	34
微丝蚴数(条)	4	7	8	10	21	145	1095

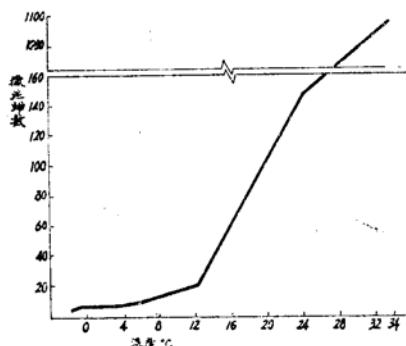


图1 牛皮经不同温度处理后分离出微丝蚴曲线图

四、黄牛各部位皮肤中微丝蚴的分布

在屠宰场选择阳性黄牛，从它们的耳、面颊、颈垂、胸腹、腹侧、腹中线、前臂、肩峰、背脊、臀、尾根、蹄等12个部位；各采皮500毫克，在相同条件下分别进行分离，另外在本所试验的牛一次分点采皮，在同样条件下分离，其结果均以腹中线、肩峰、颈垂、前臂密度较大；耳、尾根、蹄、面颊较少。见表4。

表4 微丝蚴在各部位皮肤中的密度

部 位	检查头数	检查率%	微丝蚴数(条)	
			范 围	平 均
耳	30	66.66	0—21	2.63
颈 垂	30	100	2—2531	172.63
前 臂	8	87.5	0—356	58.51
背 脊	11	100	3—134	46.73
肩 峰	11	100	8—1095	235.75
腹 侧	6	100	2—18	8.83
腹 中 线	7	100	24—1669	361.43
胸 腹 部	6	100	2—58	21.83
臀 部	9	88.88	0—60	19
蹄 部	9	80	0—20	9.11
面 颊	7	57.4	0—58	11.71
尾 根	8	37.5	0—13	2.75

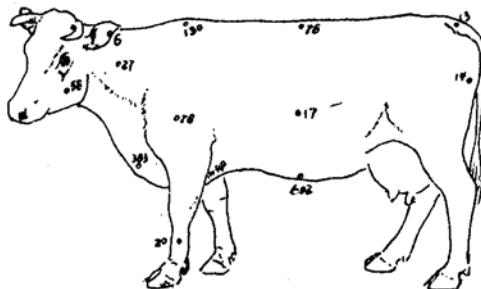


图2 2号牛一次分点采皮分离所获微丝蚴的分布

五、微丝蚴的形态

我们观察102条及测量30条微丝蚴，其结果：刚分离出来未经固定的微丝蚴细长，无鞘。头部圆滑稍膨大，多数体部伸直或是弧形，尾部呈鱼钩状弯曲，尾端尖细。体长244.6~244.8微米，体宽3.30~4.95微米，固定染色后，体形基本上同固定前，无鞘。体长216~236.25微米、体宽2.5微米。多数微丝蚴头端呈圆形稍膨大，并能见类似乳突状的突起。头间隙是无核区，长度大于宽度（2.156微米）能见到体表横纹头间隙内可见食道原基。体核是椭圆形，颗粒大，为 $1.52 \pm 0.273 \times 1.36 \pm 0.486$ 微米，深紫蓝色，排列致密，呈不规则的四行排列，肛孔以后，排列成两行，神经环距头端54~60.75微米。

米，位于体长 25.52% 处，排泄孔在神经环之后距体前端 72.9~89.1 微米，在体长的 36.37%，是一个无核透明区。排泄孔之后，体长的 42.06% 处是排泄细胞，距体前端 86.4~101.25 微米。排泄细胞较体核大 2.37 × 1.833 微米，椭圆形，着色淡，中间有一致密的绿色胞核，排泄细胞有胞突通至排泄孔，但往往被体核遮盖。远离排泄细胞之后是一串 G 细胞，共 4 个，G 细胞着色淡，是体核的三倍大小 (2.155×1.617 微米)，椭圆形。G₁—G₄ 细胞分别距体前端 135~149.83 微米，151.2~159.3 微米，157.95~167.4 微米，166.05~178.2 微米，分别在体长的 63.02%，67.44%，71.44%，75.5% 处。由于体核大和致密有的 G 细胞有时被遮盖。距 G₄ 细胞后不远，体长 84.07% 处是肛门孔，距体前端 182.25~202 微米，是一无核透明区，界限清晰，圆锥形尖细胞的尾部有核 4 个，单行排列。前 3 个呈圆形，后一个呈长圆柱形，最后一个核距尾端 4.05~9.45 微米，见图 3。

表 5 30条微丝蚴的量度 单位：微米

	范 围	均 数	标准差	% 占体长的 百分比
长 度	216~ 236.25	228.608	±0.0052	100
体 宽	2.156			
头 隙	5.36~ 9.45	5.877	±0.0019	2.57
神经环距头端	54~ 60.75	58.356	±0.0023	25.52
排泄孔距头端	72.9~ 80.1	83.167	±0.0048	36.37
排泄细胞距头端	86.4~ 101.25	161.569	±0.0041	42.06
G ₁ 细胞距头端	135~ 149.83	144.075	±0.0038	63.02
G ₂ 细胞距头端	151.2~ 158.3	154.166	±0.0027	67.44
G ₃ 细胞距头端	157.95~ 167.4	163.32	±0.0025	71.44
G ₄ 细胞距头端	166.05~ 178.2	172.589	±0.0026	75.50
肛孔距前端	182.25~ 202	192.1996	±0.0062	84.07
尾核距尾端	4.05~ 9.45	6.1479	±0.0021	

讨 论

Patnaik (1962) 从黄牛颈静脉血获得圆形盘尾丝虫微丝蚴，本次试验，我们作了 5 头阳性牛的颈静脉血和 251 头次的耳血血片的检查均未查到，但从皮肤分离获得了该微丝蚴，检出率占剖检阳性率的 98.30%。我们从皮肤分离获得的微丝蚴比成虫子宫微丝蚴细小，可能是微丝蚴在组织内移行过程所致。至于微丝蚴在体内移行的途径，需待进一步探讨。我们对 30 条微丝蚴的测量和 102 条微丝蚴的观察其结构符合子宫末端内的微丝蚴与 Patnaik 和 Shastri 的观察结果一致。

微丝蚴在牛体各部位皮肤的分布，以腹中线、肩峰、颈垂、前臂密度较大，而耳、尾根、蹠、面颊密度小，微丝蚴的分布不同，可能与适应吸血昆虫的叮咬有关。我们认为采取颈垂部位的皮肤来分离微丝蚴作为诊断本病，是最佳部位，该处有创口难污染、易愈合、采皮方便、微丝蚴密度高的特点。

小 结

本试验在血液中，没有检获圆形盘尾丝虫微丝蚴，而从皮肤分离获得，检出率符合剖检阳性的 98.30%；离体牛皮经过 -2℃~34℃ 4 小时能分离到微丝蚴；台氏液分离微丝蚴的效果好；微丝蚴的结构符合 Patnaik 和 Shastri 的观察，但我们的标本可见体表横纹和食道原基；微丝蚴在牛体皮肤的分布以腹中线、肩峰、颈垂、前臂的密度较大，耳、尾根、蹠、面颊部密度较小，因而以采取颈垂皮肤分离来诊断本病最佳。附成虫图 4。

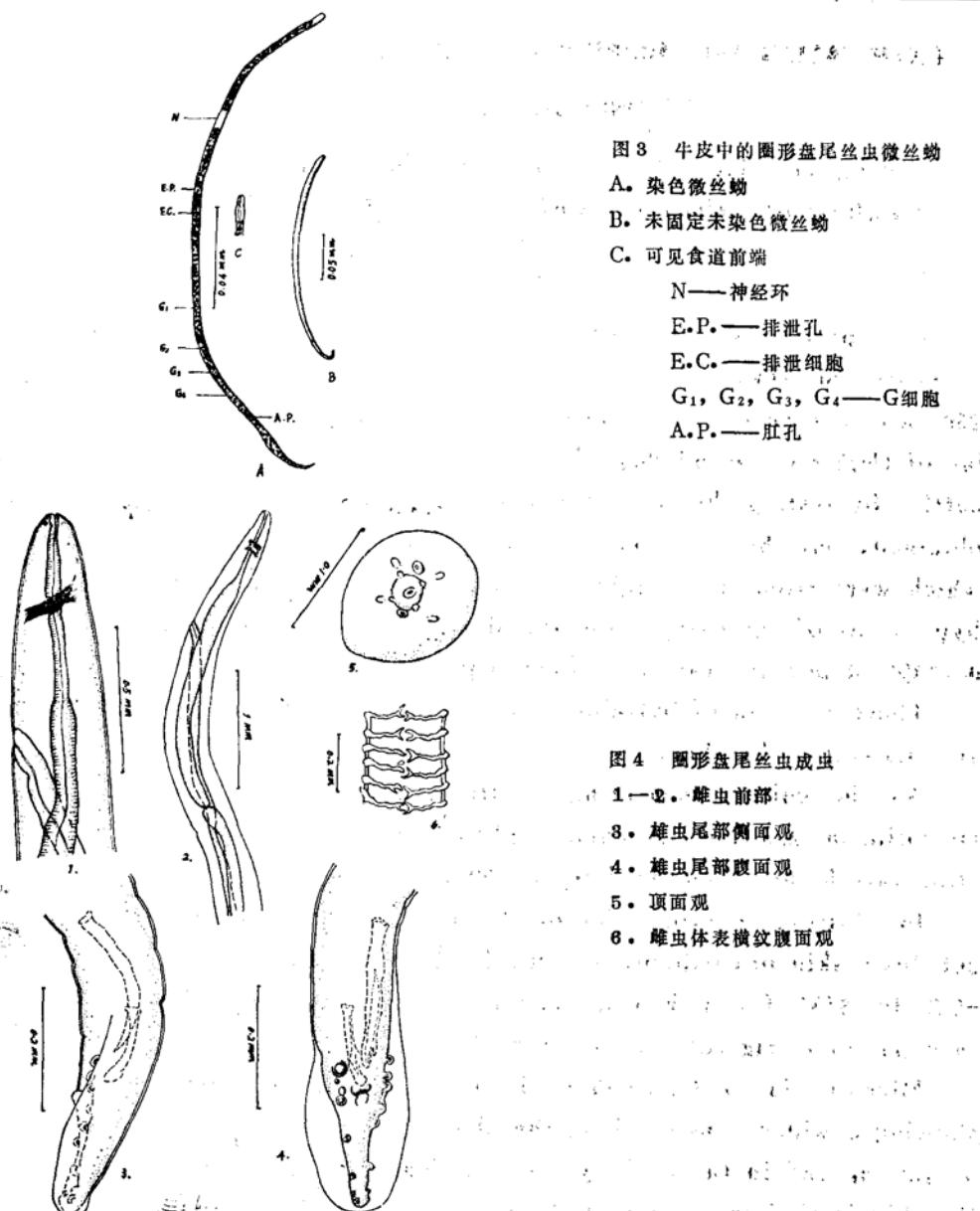


图3 牛皮中的圆形盘尾丝虫微丝蚴

A. 染色微丝蚴

B. 未固定未染色微丝蚴

C. 可见食道前端

N——神经环

E.P.——排泄孔

E.C.——排泄细胞

G₁, G₂, G₃, G₄——G细胞

A.P.——肛孔

图4 圆形盘尾丝虫成虫

1. 雄虫前部, 背面观

2. 雄虫尾部侧面观

3. 雄虫尾部腹面观

4. 雄虫尾部背面观

5. 顶面观

6. 雄虫体表横纹腹面观

参 考 文 献

- [1] 成源达, 1981. 圆形盘尾丝虫在湖南的发现与危害。中国兽医杂志, 7(11): 12~13。
- [2] 刘钟灵, 1982. 圆形盘尾丝虫在湖南省牛只中感染调查。畜牧兽医学报, 13(1): 67~69。
- [3] Manabu Sasa, 1976. 人体丝虫病。四川省寄生虫病防治研究所丝虫病研究室译, 1979。
- [4] Patnaik, B., 1962. J. Heminth, 36(3): 313~326.
- [5] Hatuskika, R., Hussun, H. S., 1961. J. parasit. 61(4): 656.
- [6] Whitlock, J. H., 1960. Diagnosis of veterinary parasitisms, 210~218.
- [7] Shastri, U. V., 1978. J. Indian Vet. 55: 741~743.
- [8] Brade E., 1981. Conerle Vet, 71(3): 332~335.
- [9] Сонин М. Д., 1975. Основы Нематодологии. 24: 39~40.

EXAMINATION AND MORPHOLOGY OBSERVATION ON MICROFILARIA OF ONCHOCERCA ARMILLATA

Cheng Yuanda, Ye Liyun, Xiao Bingnan, Zeng Hengxiu
(Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Hunan)

Abstract

Five positive cattles were tested in their jugular blood by hemolysis-concentrated larva. Under the microscope the smears with thick blood of 250 cattles were examined both the methods have showed no microfilariae of *Onchocerca armillata*. However it was separated from the skin of cattle. By testing the skin of 130 of cattle, 76.92% of *O. armillata* was obtained. But there was no finding of positive in the blood of 66 cattles which were from the slaughter house, whereas 58 cattles from the neck hypophysis of the cattle from the slaughter house. This result is equal to 98.30% of positive rate in dissecting test.

There were 33 of buffaloes which were found negative by separating and dissecting the skin.

As the culture-separating solution, Tyrode solution could obtain microfilariae 2.5 times as much as physiological saline, and with a separating rate higher than the later by 20%.

In addition, microfilariae of *O. armillata* can be separated from the cut-down skin of cattle often treated at seven different temperatures from -2°C to 34°C for 4 hours. The seven skin tissue were in Tyrode, and then put in refrigerator at 4°C for 11 days. Then it can be separated.

Microfilariae of *O. armillata* is distributed in all parts of cattle skin showing a wider density along the abdominal central line, top of shoulder, arms, and in the neck hypophysis. The structure of it separated from the skin is similar to that at the end of the uterine. The observation is identical with that of Patnaik and Shactri.