

团 体 标 准

T/CAZG 16.4—2022

动物园兽医化验室常规检测操作指南 第 4 部分：寄生虫常规检测

Guidelines for routine test of zoo veterinary laboratory

Part 4: parasitological routine test

2022-12-06 发布

2023-06-01 实施

中国动物园协会 发布

目 次

前言 II

引言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 总则 1

 4.1 准确性 1

 4.2 安全性 2

5 检测准备 2

 5.1 通则 2

 5.2 器材和试剂 2

 5.3 标本 3

6 检测 5

 6.1 通则 5

 6.2 消化道寄生虫检测 5

 6.3 血液寄生虫检测 7

 6.4 体表寄生虫检测 8

 6.5 其他寄生虫检测 9

附 录 A （资料性） 检测原理 10

参考文献 11

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是 T/CAZG 016《动物园兽医化验室常规检测操作指南》的第4部分。T/CAZG 016 已经发布了以下部分：

- 第1部分：血常规检测；
- 第2部分：尿常规检测；
- 第3部分：粪便常规检测；
- 第4部分：寄生虫常规检测。

本文件由中国动物园协会兽医工作委员会提出。

本文件由中国动物园协会管理工作委员会标准工作组归口。

本文件起草单位：北京动物园管理处、杭州动物园（杭州少年儿童公园 杭州西湖风景名胜区动物疾病监测中心）、上海动物园、南京市红山森林动物园管理处、郑州市动物园、福州市动物园管理处、昆明动物园、柳州市动物园管理处、济南市公园发展服务中心（动物园工作部）、沈阳森林动物园管理有限公司、唐山动物园、长沙生态动物园、广州动物园。

本文件主要起草人：杨明海、黄淑芳、张成林、江志、卢岩、李同义、王运盛、廖小英、应志豪、陈玎玎、李祥翔、朱云芸、李莹、贾婷、刘燕、桂剑峰、陈蓉、陈小丽、杨玉钊、刘青、杨亚东、马志朋、李向勇、植广林。

引 言

动物园兽医化验室常规检测的标本来自动物园不同种类的动物，这些标本种间差异大，对不同标本检测时采取的处理措施存在差异，给各动物园之间物种检测结果的分析、比较带来困难。常规检测中的血常规检测、粪常规检测、尿常规检测和寄生虫常规检测，目前尚无统一的操作标准。为了将常规检测操作规范化、标准化，提升动物园兽医化验室检测水平，同时利于检测数据的收集和比较，为测定各类动物常规指标参考值打下基础，促进野生动物疾病防治技术进步，更好地保护野生动物，特制定《动物园兽医化验室常规检测操作指南》，拟由4部分组成。

- 第1部分：血常规检测。
- 第2部分：粪常规检测。
- 第3部分：尿常规检测。
- 第4部分：寄生虫常规检测。

本文件根据中国动物园协会兽医工作委员会提出的规范化工作要求，经全面调查研究、总结经验，并在广泛征求意见的基础上编制。

本文件提供了动物寄生虫常规检测操作内容，检测方法的选择参考了兽医行业的相关技术资料，如参考了GB/T 18448.1、GB/T 18448.5、GB/T 18448.6等标准，并根据动物园动物寄生虫检测标本的特点和动物园兽医化验室行业现状，对检测方法进行适用性试验，对于不能直接适用的检测方法，提出了必要的改进措施，主要技术内容包括一系列检测项目及方法，是被业内公认、长期使用且在当前适用的有效方法，可作为化验室人员操作的重要参考，但不代表涵盖所有检测操作活动。

动物园兽医化验室常规检测操作指南 第4部分：寄生虫常规检测

1 范围

本文件提供了动物园兽医化验室进行动物寄生虫常规检测操作时的总则、准备、检测等方面的指导和建议。

本文件适用于动物园、野生动物饲养场等机构开展动物寄生虫常规检测操作。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，凡是注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 18218 危险化学品重大危险源辨识
- GB 19489 实验室 生物安全通用要求
- GB 19781 医学实验室-安全要求
- CJJ/T 240 动物园术语标准
- NY/T 1168 畜禽粪便无害化处理技术规范
- SN/T 3592 实验室化学药品和样品废弃物处理的标准指南
- T/CAZG 016.1 动物园兽医化验室常规检测操作指南 第1部分：血常规检测
- T/CAZG 018 动物园动物样本采集和保存操作指南

3 术语和定义

CJJ/T 240和T/CAZG 016.1中界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

寄生虫常规检测 parasitological routine test

动物园兽医化验室对动物寄生虫进行的一般检测，包括对动物消化道寄生虫、血液寄生虫、体表寄生虫和其他寄生虫进行的形态学鉴别、虫卵计数等检测操作。

注：其他寄生虫指寄生在动物尿路、鼻腔、气管、眼部、耳道等其他部位的寄生虫，含寄生在肺脏、肝脏、胆管、胰脏等部位但虫卵或虫体可以在粪便中检出的寄生虫。

3.2

虫卵计数 parasite egg count

测定每克粪便中的虫卵数（E. P. G）或每克粪便中的卵囊数（O. P. G）。

4 总则

4.1 准确性

检测时按照本文件提供的方法进行器材、试剂和标本的准备，规范操作，及时完成检测；特别注意针对不同种动物寄生虫检测标本的特点采取相应的改进措施，必要时可将几种方法综合运用，综合分析判定，确保结果准确可靠。

4.2 安全性

4.2.1 生物安全防护

生物安全在寄生虫常规检测中至关重要，注意：

- 标本均按照有感染性病原体材料对待，在标本采集、转运、保存、检测等过程中采取必要的安全防护和应急措施，避免人员感染及环境污染；
- 按照 GB 19489、GB 19781、NY/T 1168、SN/T 3592 的有关规定，将检测产生的废弃标本及其他废弃物进行无害化处理；
- 需重复使用的器材，使用后进行消毒灭菌处理；
- 对工作场所每天进行通风换气和消毒。

4.2.2 化学品安全防护

按 GB 18218 规定辨别危险化学品危险源。检测中使用无水甲醇、二甲苯等易燃、易爆或有毒的危险化学品时，注意遵守化学品安全使用要求。操作前先熟悉所用试剂的特性，做好防火、防毒、防爆及其他应急准备，防止事故发生。

5 检测准备

5.1 通则

5.1.1 寄生虫常规检测包括多个检测项目的多种检测方法，每种方法需要的器材、试剂和标本不尽相同，一并列入 5.2 和 5.3，每次检测时，根据实际用到的方法准备相应的器材、试剂和标本。标本采集和保存按照 T/CAZG 018 操作。

5.1.2 一份标本可以用于多个检测项目。增加标本采集、检测次数可有效提高寄生虫检出率。有些不符合 5.3 中相关要求的特殊标本，在实际工作中宜充分利用。

示例：夜里死亡的动物被发现时可能超过 2 h，此时采集的血液、脏器组织可用于检测血液寄生虫。

5.1.3 检测试剂以选购配制好的合格试剂为主，自行配制时使用符合要求的试剂材料；检测用的烧杯、试管、载玻片、镊子等器材，使用前按要求进行消毒、清洗等处理。

5.2 器材和试剂

5.2.1 器材

5.2.1.1 显微镜：目镜 10×，物镜具备 10×（低倍镜）、40×（高倍镜）、100×（油镜）。

5.2.1.2 可调式移液器（或刻度吸管）：具备量程 100 μL~1 000 μL，精度 10 μL。

5.2.1.3 普通低速离心机及离心管。

5.2.1.4 天平：具备量程 100 g，精度 0.1 g。

5.2.1.5 托盘天平：用于离心管配平。

5.2.1.6 麦氏虫卵计数板及计数器（加法计数器）。

5.2.1.7 常用器皿：三角烧瓶、锥形量杯、量筒、容量瓶、试剂瓶、烧杯、玻皿、研钵等。

5.2.1.8 试管及试管架：试管为一次性塑料试管或玻璃试管，具备容积 10 mL。

5.2.1.9 微量采血管（一次性微量采血吸管）：具备量程 10 μL、20 μL。

- 5.2.1.10 载玻片、盖玻片、推玻片(可将边缘光滑载玻片一端的两角分别用镊子掰掉 2 mm)。
- 5.2.1.11 牙签、棉签、镊子、止血钳、剪刀、手术刀。
- 5.2.1.12 擦镜布、擦镜纸、吸水纸。
- 5.2.1.13 40 目~60 目的筛网。
- 5.2.1.14 计数器(加法计数器)、计时器。
- 5.2.1.15 放大镜。

5.2.2 试剂

- 5.2.2.1 0.9%的氯化钠溶液(生理盐水), 可用 0.9%的氯化钠注射液代替。
- 5.2.2.2 5%甘油水溶液。
- 5.2.2.3 饱和盐水: 沸水中加入氯化钠, 不断搅动至不再溶解, 放置至室温后有结晶析出时的溶液。
- 5.2.2.4 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液。
- 5.2.2.5 2.5 mol/L 氢氧化钠溶液。
- 5.2.2.6 碘液: 称取碘化钾 4 g, 碘 2 g, 研磨, 加蒸馏水溶解, 定容至 100 mL, 贮存于棕色试剂瓶, 有效期约 14 d, 溶液颜色变浅时废弃。
- 5.2.2.7 5%~10%福尔马林溶液。
- 5.2.2.8 瑞氏-姬姆萨染色液: 防止进水, 密封保存; 配套试剂为磷酸盐缓冲液。
- 5.2.2.9 香柏油: 密封阴凉避光保存; 作为体表寄生虫检测的透明介质时, 可用甘油代替。
- 5.2.2.10 无水甲醇: 阴凉、通风处密封保存, 远离火源、热源、氧化剂。
- 5.2.2.11 二甲苯: 阴凉、通风处密封保存, 远离火源、热源。

5.3 标本

5.3.1 消化道寄生虫检测标本

消化道寄生虫常规检测标本接收和处理时注意以下事项。

- a) 粪便量宜 5 g 以上; 排便量少的动物取全量粪便即可, 用水洗沉淀法检测虫卵时需要粪便量可多至 50 g; 动物服驱虫药后检查有无寄生虫排出时, 宜用全量粪便, 对于排便量特别多的动物(如大型草食动物), 宜视具体情况而定。
- b) 标本宜新鲜, 取自粪便的多个部位, 包括有黏液、脓血等异常的成分。宜在 1 d 内尽快检测, 稀便宜在排出后 1 h 内检测。检测阿米巴滋养体的标本存放温度不低于 20 °C, 使滋养体较长时间维持活力。
- c) 从直肠采集的标本、死亡动物的肠内容物、肛周透明胶带粘取物或棉签拭子等亦可用于检测。
- d) 必要时增加标本送检次数, 可在 2 d~3 d 内采集 2 次~3 次标本。若观察驱虫疗效, 则用服药后 1 d~3 d 采集的标本。
- e) 标本记录清楚, 包括动物种类、动物个体单位编号、呼名或识别号、性别、标本编号、采集时间、标本性状以及被检动物是否服用过有影响的药物等相关信息。
- f) 检查标本是否有污染、保存不当等异常情况; 弃用不符合检测要求的标本。
- g) 不能立即检测的标本, 密封后保贮于 2 °C~8 °C, 避免卵的孵化。若标本需保存时间较长, 可加入 3 倍质量已加热至 50 °C~60 °C 的 5%~10% 福尔马林, 充分混匀, 防止微生物繁殖, 使虫体、虫卵等保持固有的形态, 在冰箱中冷藏, 3 周内完成检测。

5.3.2 血液寄生虫检测标本

血液寄生虫常规检测所用标本为被检动物血液或脏器组织, 准备时注意以下事项。

- a) 血液标本可以是静脉血、末梢血或从死亡动物尸体采集的血液; 2 μ L~4 μ L 血即可制作 1

张血涂片，宜制作3张以上血涂片。

- b) 若不能在采血时制作血涂片，则用保存的抗凝血标本。
- c) 对于动物死亡，宜在2 h内采集血液标本和脏器组织标本，首选有病变的组织。
- d) 标本记录除5.3.1e)的内容，另注明采血部位、采血时动物是否发热。
- e) 制作抗凝血涂片或组织印片时，宜在标本采集后的2 h内完成。
- f) 需要保存的标本贮存于2℃~8℃，宜在1 d内完成检测。
- g) 若对动物需要频繁采血检测或静脉采血难度较大时（如对雏鹤进行血液原虫的连续监测），宜到采血现场制作血涂片；用动物皮肤穿刺的出血或禽类羽毛拔出后毛根上的血即可满足血涂片的制作需求，同时可避免对动物有较大的伤害。

5.3.3 体表寄生虫检测标本

5.3.3.1 皮肤螨类检测所用标本是被检动物皮屑、被毛和毛囊等，准备标本时注意以下事项。

- a) 标本宜取自动物患病皮肤与健康皮肤的交界处；用稍钝的消毒刀片刮取动物溃疡或结痂部位深层皮屑，若有脓疮则挤破脓疮取其内容物；若采集部位毛长，宜先将毛剪短至1 cm左右，采集皮屑的同时用止血钳或镊子拔毛，毛上宜带有毛根、毛囊；若患病处结痂过厚，宜除去表层多余的结痂，再采集标本；若患病部位干燥，采集标本前在刀刃处蘸少量香柏油，有利于收集带虫标本；若需检测蠕形螨，宜用力挤压病变部位，将挤出的液体与皮屑、被毛一起采集。检测姬螯螨时亦可用透明胶带粘取标本。
- b) 标本宜置于载玻片上，滴加香柏油适量（亦可用其他透明介质），加盖玻片待检。
- c) 对于难以通过揉压盖玻片散开的硬结痂标本，不宜用香柏油作透明介质，而是用2.5 mol/L氢氧化钠溶液软化后镜检。
- d) 需要保存的标本，用较小的密封袋或试管存放；在标本中加入少量香柏油，可防止标本散开，提高检出率，并可使活虫能够维持较长时间的活力；不能立即检测的标本，宜在2℃~8℃保存，1 d内完成检测。
- e) 标本记录与5.3.1e)相同。

5.3.3.2 蚤、虱、蜱等体形较大的体表寄生虫检测标本：可用肉眼直接察看动物的皮肤、被毛等部位是否有虫体，亦可通过放大镜检查，捕捉到寄生虫可移到显微镜下观察。捕捉蜱时，可先用酒精涂抹在被咬部位，待蜱麻醉后取下，以防将蜱的头部留在皮肤内。

5.3.3.3 引起皮下组织结节的寄生虫检测标本：包括用手指压迫结节挤压出的血液、注射器穿刺抽取的液体或用手术刀切开患部采集的标本等。

5.3.3.4 引起皮下囊肿的寄生虫检测标本：包括动物患部皮肤破溃或囊肿破裂后流出的液体、用注射器穿刺或用手术刀切开患部采集的标本等。

5.3.4 其他寄生虫检测标本

5.3.4.1 寄生于动物尿路、鼻腔、气管、眼部、耳道的寄生虫，准备标本时注意。

- a) 尿液标本：用1 000 mL大烧杯或其他容器收集尿液，尿量少时收集全部尿液。
- b) 分泌物标本：包括动物鼻腔分泌物、耳道分泌物和渗出物、气管分泌物和痰、眼分泌物、结膜囊液等，可用生理盐水浸湿的棉签拭取分泌物。
- c) 标本宜新鲜、无污染、2 h内完成检测；不能立即检测的标本可在2℃~8℃保存1 d；标本记录与5.3.1e)相同。

5.3.4.2 寄生在肺脏、肝脏、胆管、胰脏等部位但虫卵或虫体可以在粪便中检出的寄生虫，检测标本参照5.3.1。

6 检测

6.1 通则

6.1.1 与寄生虫常规检测方法有关的原理见附录 A。

6.1.2 不同项目检测的先后顺序可根据实际需要进行调整。同一个检测项目可用一种或几种检测方法，不同检测方法各有优缺点，检测时按照所用方法的要求和步骤进行操作。有些寄生虫难以通过常规检测达到确诊目的，必要时可借助其他非常规检测方法进行寄生虫鉴别诊断。

6.1.3 标本送检人员填写检验申请单，其格式见 T/CAZG 016.1。检测人员应及时完成检测，正确分析判定，检测结束后填写检验报告单，其格式见 T/CAZG 016.1。

6.1.4 实验室对检测数据进行记录，留存图片、影像等资料，并进行资料整理和保存。

6.2 消化道寄生虫检测

6.2.1 直接涂片法

6.2.1.1 直接涂片法用于检测蠕虫卵及其幼虫、球虫卵囊、结肠小袋纤毛虫滋养体及其包囊、阿米巴滋养体以及活动的鞭毛虫等，按以下步骤进行操作。

- 在载玻片上滴加 1 滴~3 滴生理盐水，可用 5% 甘油水溶液代替生理盐水。
- 用牙签或镊子取少许粪便置于载玻片上，宜从粪便的不同部位取标本并优先选取异常粪便。为提高检出率，宜取标本 3 次分别制作 3 张涂片进行检测，必要时可增加检测次数。
- 在载玻片上将粪便与生理盐水充分混合，除去粪渣，涂抹成薄薄的一层粪膜至透过载玻片可以依稀看到其下报纸上的字迹，加盖玻片。
- 显微镜观察：宜仔细查遍全片，可先用低倍镜快速观察，发现目标后再用高倍镜进一步辨识。若低倍镜下没有发现任何可疑物，则用高倍镜观察大约三分之一的区域。可轻扣盖玻片促使液体流动、物体翻转，更好地鉴定寄生虫。
- 结果报告：宜用阴性（-）和阳性（+）表示检测结果，写明所用方法，阳性结果时写明检出寄生虫或卵的种类，可用每个视野中发现的目标数量表示感染的严重程度，亦可用其他形式描述感染情况。

注：检测阿米巴滋养体时，室温宜不低于 20℃。

6.2.1.2 特殊标本的处理：对一些野生动物粪便标本的处理方法宜适当改进，如大熊猫粪便常以大块的未消化食物为主，检测时可取粪便放入试管等容器内，用少量生理盐水洗出粪汁，亦可通过挤压粪便流出粪汁，再滴加到载玻片上镜检。

6.2.2 碘液染色法

碘液染色法适用于动物原虫的检测，可对直接涂片法不能确定的可疑物进行鉴定，如检测阿米巴滋养体及包囊、蓝氏贾第鞭毛虫包囊等原虫，操作步骤：滴加 1 滴~2 滴碘液在载玻片上，取少许粪便在碘液中涂抹搅匀成粪膜后镜检，其他步骤与 6.2.1.1d)、6.2.1.1e) 相同。

可在载玻片的两端同时进行生理盐水直接涂片法和碘液染色法检测，提高检测效率。

6.2.3 集卵法

6.2.3.1 饱和盐水漂浮法

饱和盐水漂浮法适用于检测线虫卵、绦虫卵和球虫卵囊，按以下步骤进行操作。

- 用镊子从标本不同部位取一定量的粪便放入大试管或烧杯；粪便量与饱和盐水的比例宜为

1:10, 如用 20 mL 漂浮管漂浮时称取粪便 2 g; 若粪便中有成块状的未消化食物残渣, 可适当增加粪便比例。

- b) 加入饱和盐水, 充分捣碎、搅拌成混悬液, 用 40 目~60 目筛网过滤后加入漂浮管, 继续滴加饱和盐水至略高于管口, 但不要溢出, 液面有泡沫时宜除去; 若用镊子去除粪渣后的混悬液比较稀薄, 可不用筛网过滤, 直接漂浮。
- c) 静置 20 min, 用载玻片接触液面, 然后垂直向上提起, 迅速翻转, 加盖玻片; 亦可先用盖玻片覆盖在管口上, 与液面完全接触, 静置 20 min 后提起盖玻片, 放载玻片上。
- d) 显微镜观察和结果报告与 6.2.1.1d)、6.2.1.1e) 相同。

6.2.3.2 自然沉淀法

自然沉淀法适用于检测吸虫卵、棘头虫卵和比重大于水的原虫包囊、幼虫等, 标本量过少时不宜用此法, 具体操作按以下步骤进行:

- a) 根据标本量的多少, 可取粪便 3 g~50 g, 放入烧杯中;
- b) 加入 10 倍~20 倍量的水, 充分搅拌成混悬液, 用 40 目~60 目筛网过滤到另一干净锥形量杯中, 加水至杯口 2 cm 处;
- c) 静置 10 min~20 min, 待粪渣沉底后弃上层液, 留下的沉渣再加水、搅拌、静置, 反复沉淀几次, 直到上层液澄清为止, 最后弃上层液, 用吸管取沉渣涂片;
- d) 显微镜观察和结果报告与 6.2.1.1d)、6.2.1.1e) 相同。

6.2.3.3 离心沉淀法

离心沉淀法比自然沉淀法用时短, 标本用量可少于 3 g, 按以下步骤进行操作。

- a) 取约 1 g~5 g 粪便放入烧杯中, 加入 5 倍量的水。
- b) 充分搅拌成混悬液, 用 40 目~60 目筛网滤入离心管中。
- c) 1 500 r/min 离心 3 min~5 min, 然后弃上层液, 沉渣再加水、搅拌、离心, 重复沉淀 3 次~4 次, 直至上层液澄清后, 弃上层液, 用吸管取沉渣涂片; 若用离心沉淀法检测球虫, 离心时, 用 2 500 r/min 离心 10 min。
- d) 显微镜观察和结果报告与 6.2.1.1d)、6.2.1.1e) 相同。

可将离心沉淀法和漂浮法结合起来, 如先用漂浮法将虫卵和比虫卵轻的物质漂起来, 再取上层液用离心沉淀法将虫卵沉下去, 取沉渣涂片镜检, 以获得更高的检出率。

6.2.4 虫卵计数

6.2.4.1 斯陶尔氏法 (Stoll's method)

斯陶尔氏法适用于大部分虫卵、卵囊的计数, 按以下步骤进行操作:

- a) 用标记有 56 mL、60 mL 两个刻度的三角烧瓶或大试管, 先加入 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液到 56 mL 刻度处, 再缓慢加入待检粪便, 使液面到达 60 mL 刻度为止, 即加入 4 g 粪便;
- b) 加入 10 个直径 3 mm 的小玻璃珠, 盖上橡皮塞, 充分振荡, 使粪便破碎混匀成为混悬液, 必要时过滤除去残渣;
- c) 立即用刻度吸管或可调式移液器吸取 0.15 mL 混悬液, 避免吸取残渣, 内含粪便 0.01 g, 滴于 2 张~3 张载玻片上, 加盖玻片;
- d) 显微镜计数: 不同虫卵分别计数, 自载玻片的一端数至另一端, 避免重复或遗漏;
- e) 结果报告: 不同虫卵分别报告, 将所见虫卵数乘以 100, 即为 1 克粪便中含有的虫卵数, 单位为个每克 (个/克)。

动物园多种动物粪便密度差异较大, 4 mL 粪便的质量往往并不是 4 g, 为避免误差, 宜用天平称取

4 g 粪便，加入 56 mL 氢氧化钠溶液中，再进行下一步操作。若标本量不足 4 g，宜将粪便和氢氧化钠溶液等比例减少，如称取 2 g 粪便，加入氢氧化钠溶液 28 mL。必要时，可每天检测 1 次~3 次，连续检测 3 d，取其平均值；可亦通过对同一标本进行重复计数提高结果的精确性。

若粪便中含有较多的未消化食物、毛团等残渣，或粪便有很强的黏性，难以通过搅拌、振荡将粪便混匀成为混悬液，宜用剪刀、镊子、研钵等器具将粪便进行破碎、磨细处理。研磨操作时，将粪便放入研钵，加入约 10 mL 氢氧化钠溶液进行研磨、搅拌，同时避免研杵与研钵之间磨擦破坏虫卵，待粪便磨细后，加入剩余的氢氧化钠溶液，混匀后计数。

6.2.4.2 麦克马斯特氏法 (McMaster's method)

麦克马斯特氏法适用于可被饱和盐水漂浮的各种虫卵、卵囊的计数，按以下步骤进行操作：

- 准备好麦氏虫卵计数板，每块板上有两个计数池，每个计数池容积为 0.15 mL；
- 称量粪便 2 g 放入 100 mL 容器中，加入饱和盐水 58 mL，再加入小玻璃珠，充分振荡，使粪便破碎混匀，必要时过滤除去残渣；
- 将粪汁搅拌混匀成为混悬液，立即吸取少量，注入麦克马斯特计数板的两个计数池，置显微镜台上，静置 1 min~2 min；
- 显微镜计数：不同虫卵分别计数，计数两个计数池内所有的虫卵，避免重复或遗漏；
- 结果报告：不同虫卵分别报告，求出两个计数池中虫卵数的平均数，再乘以 200 即为每克粪便中含有的虫卵数，单位为个每克 (个/克)。

针对不同种动物标本的特点，宜参考 6.2.4.1 对操作方法进行相应改进。

6.2.5 虫体检查

对于体形较大、肉眼观察可见的寄生虫，可直接观察或借助放大镜观察；对于体形小、肉眼难以观察的寄生虫，检测操作步骤如下：

- 取粪便加入水中，搅拌混匀；
- 用 40 目的筛网或纱布过滤，过滤后的粪渣再反复水洗、过滤，直到滤出的液体比较透明；
- 将粪渣倒入装有水的大玻皿内，在玻皿的下方衬一张黑纸，用肉眼或放大镜查找虫体，如蛔虫、蛲虫、绦虫节片等；
- 若发现虫体，可用吸管、镊子或针取出进一步观察，亦可用显微镜观察虫体的细微结构特征；
- 需要保存的虫体，先放在水中 4 ℃ 冷藏，待虫体松弛后，再将其放入 10% 福尔马林溶液保存；
- 结果报告：可用阴性 (-) 和阳性 (+) 表示，阳性结果时写明检出寄生虫的种类，亦可用其他形式描述感染情况。

6.3 血液寄生虫检测

6.3.1 直接涂片法

直接涂片法适用于虫体形态结构特征与血细胞差异明显或镜检时仍保持活动的血液寄生虫的检测，例如以下寄生虫的检测。

——血液微丝蚴的检测：取新鲜血液 1 滴置于载玻片上，加盖玻片，制成血滴标本，保温 (25 ℃ 以上) 可使虫体较长时间保持活力，立即在低倍镜下观察有无微丝蚴。亦可取血液和生理盐水各 1 滴，置于载玻片上混匀，加盖玻片镜检。为提高检出率，可制作厚血膜涂片，即滴 2 滴~3 滴血液在酒精清洗过的载玻片上，用载玻片的一角混合血滴并旋转，涂布成直径为约 2 cm 大小的厚血膜；如果用的是新鲜血液，要继续搅拌半分钟防止纤维蛋白丝形成，用抗凝血时则不必继续搅拌半分钟；采用风干方式充分干燥后浸入水中，等血膜成乳白色时，取出趁湿镜检。结果报告可用阴性 (-) 和阳性 (+) 表示或用描述性语言。

——伊氏锥虫的检测：取生理盐水1滴置于载玻片上，取血液1小滴与生理盐水混匀，呈粉红色，加盖玻片，制成血液滴标本，注意保温，用高倍镜观察。观察时宜将聚光镜下落，并使视野偏暗一些，便于观察活动的虫体。结果报告可用阴性（-）和阳性（+）表示或用描述性语言。

6.3.2 染色法

染色法适用于各种血液寄生虫的检测，宜使用瑞-姬氏染色法，按以下步骤进行操作。

- a) 薄血膜涂片（血涂片）制作：采血后立即涂片时，用微量采血管快速吸取血液10 μL 左右，加一小滴（2 μL ~4 μL ）置于载玻片的一端（起始端）约三分之一处，一手持载玻片，另一手持推玻片，使其推片一端与载玻片尾端上面接触，向起始端缓慢移动触及血滴后停止，待血液沿推玻片触端散成一条均匀的粗线后，使推玻片与载玻片夹角保持在 30° ~ 45° ，均匀地推向载玻片尾端，制成只有单层血细胞的薄血膜涂片。手持载玻片在空气中挥动，使血膜迅速充分干燥。血膜干燥后，可在血涂片起始端无血膜处的背面用记号笔标记动物、日期等相关信息。用抗凝血检测时，注意将血液充分混匀后再涂片。冷藏保存的抗凝血，先恢复至室温状态再混匀、涂片。动物任何部位的出血都可用于制作血涂片，如拔出一根禽类羽毛后毛根带出的血或动物外伤时的出血，取一小滴即可制作涂血片。宜连续制作血涂片2张以上备用。亦可制作厚血膜涂片，按照6.3.1a)涂厚血膜，风干，浸入水中，血膜成乳白色时取出，再干燥备用。
- b) 组织印片制作：某些寄生虫（如禽类血孢子虫）对脏器的侵害严重，可用死亡动物的肝、脾、肺、肾等脏器制作组织印片后检测。印片时先将组织块的刀切面触及吸水纸几次，吸去渗出的液体，再触及载玻片，制成印片，手持载玻片在空气中挥动，使组织薄膜迅速干燥。
- c) 固定：在血涂片或组织印片上滴加无水甲醇数滴，固定1 min~3 min，待甲醇完全挥发、干燥。
- d) 染色：按每1.5 mL磷酸盐缓冲液（或蒸馏水）中，加入5滴~10滴瑞氏-姬姆萨染色液，配成应用液，盖满血涂片或组织印片。染色10 min~20 min；用清水冲去染色液，冲洗时避免倾斜载玻片，将载玻片平放，用流水缓缓冲洗掉染料沉淀物。冲洗后晾干。可通过预染试验确定缓冲液和染色液的比例以及染色时长。
- e) 镜检：通过观察寄生虫的形态结构和染色特征进行识别；用显微镜观察时，先从低倍镜开始观察，接着滴加香柏油1滴，用油镜查找寄生虫，观察细微特征。必要时可进行寄生虫计数：根据寄生虫的多少，选择有代表性的视野若干个，计数视野内寄生虫、红细胞、白细胞或被感染细胞的数量，避免重复或遗漏，计算平均每个视野中的寄生虫数，或者计算寄生虫与某种血细胞之间的比例，如计算被血孢子虫感染的红细胞与正常红细胞之间的比例。镜检后擦试油镜头。若有必要，可将血涂片或组织印片用二甲苯和擦镜纸擦拭干净后保存。
- f) 结果报告：宜用阴性（-）和阳性（+）表示；阳性结果时写明检出寄生虫的种类，可用每个视野中的寄生虫数或寄生虫与细胞之间的比例表示感染的严重程度，亦可用其他方式描述感染情况。

6.4 体表寄生虫检测

6.4.1 显微镜观察

6.4.1.1 皮肤螨类检测

根据标本的不同特点，操作方法亦有所不同，常规操作步骤如下：

- a) 将标本置于载玻片上；
- b) 滴加香柏油数滴，用镊子或牙签将标本散开，加盖玻片轻压搓动，使标本变薄并完全浸入油中；

- c) 在低倍镜下观察，当视野透明时查找虫体或虫卵，若发现并能识别即可确诊；
- d) 换高倍镜观察虫体或虫卵的细微结构，必要时测量大小，并拍照或录像，留存资料；
- e) 结果报告：宜用阴性（-）和阳性（+）表示检测结果，阳性结果时写明检出寄生虫的种类，可用每个视野中的寄生虫数表示感染的严重程度。

若采集的标本中有痂皮，可将标本置于载玻片上，滴加香柏油，用另一载玻片覆盖，通过揉压使标本散开，直接用低倍镜观察，或取下覆盖的载玻片，换上盖玻片镜检。对于难以通过揉压散开的硬结痂标本，不能用香柏油作透明介质，宜加入 2.5 mol/L 氢氧化钠溶液，等标本软化后，再用显微镜观察。氢氧化钠溶液的透明效果比香柏油差，主要用于硬结痂等需要软化的标本检测。

6.4.1.2 引起皮下组织结节和囊肿寄生虫的检测

引起皮下组织结节和囊肿寄生虫的检测操作如下。

- 引起皮下组织结节的副丝虫等寄生虫的检测：用手指压迫结节，将压出的血液滴于载玻片上，加蒸馏水溶血后，加盖玻片镜检；穿刺抽取的液体或用手手术刀切开患部采集的标本，置载玻片上，可加生理盐水 1 滴~2 滴，加盖玻片镜检。
- 引起皮下囊肿寄生虫的检测：将动物患部皮肤破溃或囊肿破裂后流出的液体，或用注射器穿刺、用手手术刀切开患部采集的标本，置于载玻片上，加盖玻片镜检。牛皮蝇幼虫的检查，可从隆起的皮肤上的小孔内挤出幼虫，用肉眼观察或显微镜观察。

6.4.2 肉眼观察

引起动物脱毛、毛糙、搔痒及皮肤溃疡、结痂等症状的体表寄生虫感染时，可用肉眼观察，尤其注意动物易感染部位，如耳根、颈后、眼周、背部、臀部及腹股沟等处。

通过肉眼可直接观察到蚤、虱、蜱等体形较大的体表寄生虫，亦可借助放大镜观察。若能接触动物，可用梳子梳理动物被毛，以便观察。找到的寄生虫可收集起来，必要时用显微镜观察细微结构特征。

6.5 其他寄生虫检测

其他寄生虫的检测操作如下。

- 尿路寄生虫检测：将尿液倒入锥形量杯中静置 30 min，倾去上层尿液，保留下层有沉淀物的部分。倾倒时应缓慢倾斜量杯，不要停顿，避免沉渣浮起。然后将沉淀物分装于离心管内，进行离心沉淀，倾去上层尿液，吸取沉淀物置于载玻片上，加盖玻片镜检。
- 寄生在鼻腔、气管、眼部、耳道等部位寄生虫的检测：用镊子、剪刀、湿棉签等将分泌物或痰标本置于载玻片上，与生理盐水混匀、涂薄，加盖玻片镜检。
- 寄生在肺脏、肝脏、胆管、胰脏等部位但虫卵或虫体可以在粪便中检出的寄生虫，检测方法参照消化道寄生虫的检测方法（见 6.2）。

附 录 A
(资料性)
检测原理

A.1 消化道寄生虫检测原理

A.1.1 直接涂片法：动物粪便中的蠕虫卵及其幼虫、球虫卵囊、结肠小袋纤毛虫滋养体及其包囊、阿米巴滋养体以及活动的鞭毛虫等，可用粪便涂片，在显微镜下直接观察。

A.1.2 碘液染色法：动物粪便中的阿米巴滋养体及其包囊、蓝氏贾第鞭毛虫包囊等原虫经碘液染色，虫体细胞质呈淡黄色，核较透明，虫体内含有的肝糖呈暗褐色，可在显微镜下观察。

A.1.3 饱和盐水漂浮法：动物粪便中的线虫卵、绦虫卵和球虫卵囊等比重小于饱和盐水的寄生虫病原体，可用饱和盐水漂浮，将较多粪便中的病原体集中漂浮于液面，以提高检出率。

A.1.4 沉淀法（自然沉淀法和离心沉淀法）：动物粪便中的吸虫卵、棘头虫卵及比重大于水的原虫包囊、幼虫等寄生虫病原体，可在水中下沉，将较多粪便放入水中使病原体沉淀集中于水底，以提高检出率。离心可使病原体下沉速度加快，提高检测速度。

A.1.5 虫卵计数：按照一定比例，将粪便跟配制好的溶液充分混匀成混悬液，在显微镜下计数一定体积混悬液中的虫卵总数，再经换算求出每克粪便中的虫卵数或卵囊数。

A.1.6 虫体检查：体形较大的消化道寄生虫，如蛔虫、蛲虫、绦虫节片等虫体可直接用肉眼观察或借助放大镜观察；体形小、肉眼难以观察的消化道寄生虫可用显微镜观察。

A.2 血液寄生虫检测原理

寄生在动物血液中的寄生虫，如血液原虫、微丝蚴等，检测时用血液制成涂片，采用瑞-姬氏染色法，使寄生虫着色，可在显微镜下根据寄生虫形态结构和染色特征进行鉴别。虫体形态结构特征与血细胞差异明显或镜检时仍保持活动的血液寄生虫，可涂片后在显微镜下直接观察。

A.3 体表寄生虫检测原理

A.3.1 皮肤螨类等微小虫体或虫卵，检测时将标本加透明介质，可在显微镜下直接观察。

A.3.2 体形较大的体表寄生虫可用肉眼直接观察、借助放大镜观察或在显微镜下观察。

参 考 文 献

- [1] GB/T 18448.1 实验动物 体外寄生虫检测方法
 - [2] GB/T 18448.5 实验动物 艾美耳球虫检测方法
 - [3] GB/T 18448.6 实验动物 蠕虫检测方法
 - [4] GB/T 18448.7 实验动物 疟原虫检测方法
 - [5] GB/T 18448.8 实验动物 犬恶丝虫检测方法
 - [6] GB/T 18448.9 实验动物 肠道溶组织内阿米巴检测方法
 - [7] GB/T 18448.10 实验动物 肠道鞭毛虫和纤毛虫检测方法
 - [8] GB/T 18647 动物球虫病诊断技术
 - [9] NY/T 1957 动物寄生虫鉴定检索系统
-