

ICS 65.020.30
CCS B 44

DB11

北京市地方标准

DB11/ T 1806—2020

代替 DB11/T 828.2—2011, DB11/T 1053.2—2013, DB11/T 1460.1—2017, DB11/T 1460.2—2017, DB11/T
1460.3—2017, DB 11/T 1460.4—2018, DB 11/T 1460.5—2018

实验动物 寄生虫检测

Laboratory animal—Parasitological testing

2020 - 12 - 24 发布

2021 - 04 - 01 实施

北京市市场监督管理局

发布

目 次

前言.....	11
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 等级分类.....	2
5 检测要求.....	2
6 检测程序.....	7
7 检测方法.....	8
8 检测规则.....	11
9 结果判定.....	12
10 结论与报告.....	12
附录 A（规范性） 实验鸡的组织滴虫检测	13
附录 B（规范性） 实验鹅的毛滴虫检测	14
附录 C（规范性） 实验鸽的疟原虫检测	15
附录 D（规范性） 实验鱼的寄生虫检测	16
参考文献.....	17

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。

本文件代替DB11/T 828.2—2011《实验用小型猪 第2部分：寄生虫学等级及监测》、DB11/T 1053.2—2013《实验用鱼 第2部分：寄生虫学等级及监测》、DB11/T 1460.1—2017《实验动物 寄生虫学等级及监测 第1部分：实验用猪》、DB11/T 1460.2—2017《实验动物 寄生虫学等级及监测 第2部分：实验用牛》、DB11/T 1460.3—2017《实验动物 寄生虫学等级及监测 第3部分：实验用羊》、DB 11/T 1460.4—2018《实验动物 寄生虫检测与评价 第4部分：实验用狨猴》、DB 11/T 1460.5—2018《实验动物 寄生虫检测与评价 第5部分：实验用长爪沙鼠》，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了“实验雪貂、实验猫、实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽”寄生虫检测相关内容（见6.2.5、6.2.6、6.2.7、6.2.8）。

本文件由北京市科学技术委员会提出并归口。

本文件由北京市科学技术委员会组织实施。

本文件起草单位：中国农业大学、中国食品药品检定研究院、国家卫生健康委科学技术研究所、中国科学院水生生物研究所、中国动物疫病预防控制中心、首都医科大学、浙江省医学科学院、中国医学科学院医学实验动物研究所、北京康蓝生物技术有限公司、北京市实验动物管理办公室、北京实验动物行业协会、北京市标准化研究院、中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、北京华阜康生物科技股份有限公司、吉林大学。

本文件主要起草人：刘贤勇、李冠民、贺争鸣、田克恭、巩薇、陈洪岩、姜洪杰、索勋、李根平、王锡乐、刘文菊、齐静、刘云波、魏强、向志光、刘先菊、黄澜、李长龙、付瑞、岳秉飞、萨晓婴、王吉、杜小燕、陈振文、肖冲、冯育芳、袁宝、胡进平、任文陟、樊子风、宫鹏涛、杨利峰、钟景川、樊晨茹、向碧琪、毕菲菲、王桂堂、李文祥、崔宗斌、孙德明等。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——首次发布分别为DB11/T 828.2—2011、DB11/T 1053.2—2013、DB11/T 1460.1—2017、DB11/T 1460.2—2017、DB11/T 1460.3—2017、DB 11/T 1460.4—2018、DB 11/T 1460.5—2018；

——本次为第一次修订。

实验动物 寄生虫检测

1 范围

本文件规定了实验动物的寄生虫学等级分类、检测要求、检测程序、检测方法、检测规则、结果判定、结论与报告。

本文件适用于实验小型猪、实验猪、实验牛、实验羊、实验猕猴、实验长爪沙鼠、实验雪貂、实验猫、实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽、实验鱼（斑马鱼和剑尾鱼）的寄生虫检测。

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，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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/T 18448.1 实验动物 体外寄生虫检测方法
- GB/T 18448.2 实验动物 弓形虫检测方法
- GB/T 18448.3 实验动物 兔脑原虫检测方法
- GB/T 18448.4 实验动物 卡氏肺孢子虫检测方法
- GB/T 18448.6 实验动物 蠕虫检测方法
- GB/T 18448.7 实验动物 疟原虫检测方法
- GB/T 18448.9 实验动物 肠道溶组织内阿米巴检测方法
- GB/T 18448.10 实验动物 肠道鞭毛虫和纤毛虫检测方法
- GB/T 18642 猪旋毛虫病诊断技术
- GB/T 18644 猪囊尾蚴病诊断技术
- GB/T 18647 动物球虫病诊断技术
- GB/T 23239 伊氏锥虫病诊断技术
- NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范
- NY/T 1466 动物棘球蚴病诊断技术
- NY/T 1949 隐孢子虫卵囊检测技术 改良抗酸染色法
- SN/T 1225 住白细胞虫病诊断方法 显微镜检查法
- SN/T 2975 鱼华支睾吸虫囊蚴鉴定方法
- SN/T 3485 牛焦虫病检疫技术规范
- SN/T 3499 新孢子虫病检疫技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实验动物 laboratory animal

经人工饲养，对其携带的微生物和寄生虫实行控制，遗传背景明确或者来源清楚，用于科学研究、教学、生产和检定以及其他科学实验的动物。

[来源: GB 14925—2010, 3.1]

3.2

普通级实验动物 conventional (CV) laboratory animal

不携带所规定的人兽共患病病原、动物烈性传染病病原和对科学实验有重大干扰的病原的实验动物。

3.2.1

无特定抗原抗体普通级实验动物 specific antigen & antibody-free conventional (CV) laboratory animal

普通级实验动物中未免疫特定的疫苗,且经检测不携带实验要求排除的特定病原微生物抗原抗体的实验动物,称为无特定抗原抗体普通级实验动物。

3.3

无特定病原体级实验动物 specific pathogen free (SPF) laboratory animal

除普通级实验动物应排除的病原外,不携带主要潜在感染或条件致病和对科学实验干扰大的病原的实验动物。

3.4

无菌级实验动物 germ free (GF) laboratory animal

无可检出的一切生命体的实验动物。

4 等级分类

根据对微生物和寄生虫控制的程度,实验动物分为普通级实验动物、无特定病原体级实验动物和无菌级实验动物三个等级。

5 检测要求

5.1 外观检查

对待检实验动物的精神状态、行为、被毛、天然孔分泌物进行外观检查。

5.2 寄生虫检测项目

5.2.1 实验猪和实验小型猪各等级寄生虫检测项目按照表1的规定执行。

表1 实验猪和实验小型猪各等级寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	检测要求
普通级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
	旋毛虫 (Trichinella)	●
	猪囊尾蚴 (Cysticercus)	●
无特定病原体	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
	旋毛虫 (Trichinella)	●
	猪囊尾蚴 (Cysticercus)	●
	球虫 (Coccidia)	●
	小袋纤毛虫 (Balantidium)	●
	贾第虫 (Giardia)	●
	阿米巴原虫 (Amoeba)	●
	隐孢子虫 (Cryptosporidium)	●
	蠕虫 (Helminths)	●
无菌级	任何可检出的生命体	●

注：“●”表示必检项，要求阴性。

5.2.2 实验牛和实验羊各等级寄生虫检测按照表2的规定执行。

表2 实验牛和实验羊各等级寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	实验牛 检测要求	实验羊 检测要求
普通级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●	●
	棘球蚴 (Echinococcus)	●	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●	●
无特定病原体级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●	●
	棘球蚴 (Echinococcus)	●	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●	●
	球虫 (Coccidia)	●	●
	新孢子虫 (Neospora)	●	●
	梨形虫 (Piroplasma)	●	○
	贾第虫 (Giardia)	●	●
	锥虫 (Trypanosome)	●	○
	蠕虫 (Helminths)	●	●
	隐孢子虫 (Cryptosporidium)	●	○
无菌级	任何可检出的生命体	●	●

注：“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性。

5.2.3 实验狨猴各等级寄生虫检测项目按照表3的规定执行。

表3 实验狨猴各等级寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	检测要求
普通级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
无特定病原体级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
	鞭毛虫 (Flagellates)	●
	蠕虫 (Helminths)	●
	球虫 (Coccidia)	●
	疟原虫 (Plasmodium)	●
无菌级	任何可检出的生命体	●

注：“●”表示必检项目，要求阴性。

5.2.4 实验长爪沙鼠各等级寄生虫检测项目按照表4的规定执行。

表4 实验长爪沙鼠各等级寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	检测要求
普通级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
无特定病原体级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
	纤毛虫 (Ciliates)	●
	鞭毛虫 (Flagellates)	●
	蠕虫 (Helminths)	●
	卡氏肺孢子虫 (Pneumocystis carinii)	●
	兔脑原虫 (Encephalitozoon cuniculi)	●
无菌级	任何可检出的生命体	●

注：“●”表示必检项，要求阴性。

5.2.5 实验雪貂各等级寄生虫检测项目按照表5的规定执行。

表5 实验雪貂各等级寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	检测要求
普通级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
无特定病原体级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
	蠕虫 (Helminths)	●
	球虫 (Coccidia)	●
	鞭毛虫 (Flagellates)	●
无菌级	任何可检出的生命体	●
注：“●”表示必检项，要求阴性。		

5.2.6 实验猫各等级寄生虫检测项目按照表6的规定执行。

表6 实验猫各等级寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	检测要求
普通级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
	华支睾吸虫 (Clonorchis sinensis)	●
无特定病原体级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●
	华支睾吸虫 (Clonorchis sinensis)	●
	纤毛虫 (Ciliates)	●
	鞭毛虫 (Flagellates)	●
	蠕虫 (Helminths)	●
	兔脑原虫 (Encephalitozoon cuniculi)	●
球虫 (Coccidia)	●	
无菌级	任何可检出的生命体	●
注：“●”表示必检项，要求阴性。		

5.2.7 实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽各等级寄生虫检测项目按照表7的规定执行。

表7 实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽各等级寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	实验鸡 检测要求	实验鸭 检测要求	实验鹅 检测要求	实验鸽 检测要求
普通级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●	●	●	●
	蠕虫 (Helminths)	●	●	●	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●	●	●	●

表7 实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽各等级寄生虫检测项目（续）

动物等级	寄生虫	实验鸡 检测要求	实验鸭 检测要求	实验鹅 检测要求	实验鸽 检测要求
无特定病原等级	体外寄生虫 (Ectoparasites)	●	●	●	●
	蠕虫 (Helminths)	●	●	●	●
	弓形虫 (Toxoplasma)	●	●	●	●
	住白细胞虫 (Leucocytozoon)	●	○	●	○
	阿米巴原虫 (Ameba)	●	○	○	○
	隐孢子虫 (Cryptosporidium)	●	●	○	○
	组织滴虫 (Histomonas)	●	○	○	○
	球虫 (Coccidia)	●	●	●	●
	毛滴虫 (Trichomonas)	○	○	●	○
	疟原虫 (Plasmodium)	○	○	○	●
无菌级	任何可检出的生命体	●	●	●	●

注：“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性。

5.2.8 实验鱼各等级寄生虫检测项目按照表8的规定执行。

表8 实验鱼各等级寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	检测要求
普通级	微孢子虫 (Pseudoloma neurophilia)	●
	卵圆鞭毛虫 (Piscinoodinium pillulare)	●
	多子小瓜虫 (Ichthyophthirius multifiliis)	●
	头槽绦虫 (Bothriacephalidae)	●
无特定病原等级	微孢子虫 (Pseudoloma neurophilia)	●
	卵圆鞭毛虫 (Piscinoodinium pillulare)	●
	多子小瓜虫 (Ichthyophthirius multifiliis)	●
	头槽绦虫 (Bothriacephalidae)	●
	斜管虫 (Chilodonella)	●
	车轮虫 (Trichodina)	●
	杯体虫 (Apisoma)	●
	粘孢子虫 (Myxozoan)	●
	指环虫 (Dactylogyruis)	●
	绒毛伪毛细线虫 (Pseudocapillaria tomentosa)	●
	三代虫 (Gyrodactylus)	●
	驼形线虫 (Camallanidae)	●
锚头蚤 (Lernaea)	●	
无菌级	任何可检出的生命体	●

注：“●”表示必检项，要求阴性。

6 检测程序

6.1 实验小型猪、实验猪、实验牛、实验羊、实验狨猴、实验长爪沙鼠、实验雪貂、实验猫、实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽检测程序

6.1.1 实验小型猪、实验猪、实验牛、实验羊、实验狨猴、实验长爪沙鼠、实验雪貂、实验猫、实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽检测程序按照图 1 的规定执行。

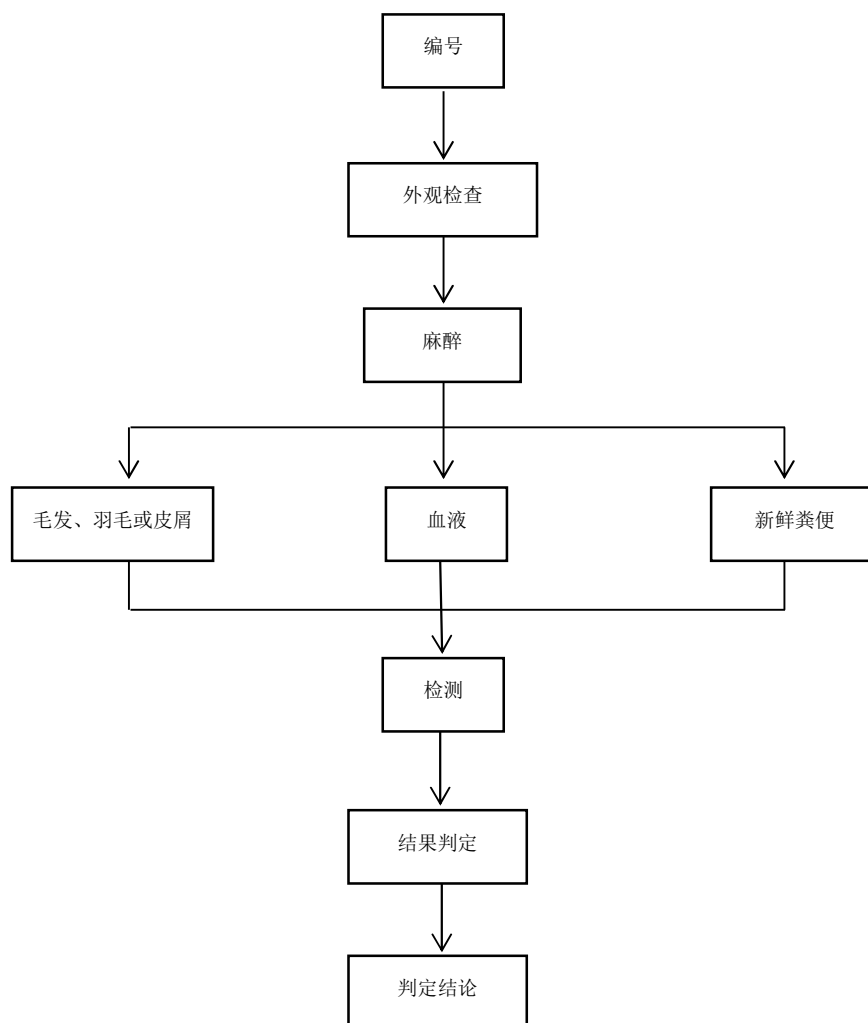


图1 实验动物寄生虫检测程序

6.1.2 麻醉应根据不同动物种类、采集部位决定是否需要麻醉。需要麻醉时，应考虑不同种类实验动物的耐受剂量，可采用吸入性麻醉或注射麻醉，麻醉过程中应随时注意实验动物的反应。实施麻醉人员应经过相应培训并具备相应的能力。

6.1.3 采血方法以及毛发、羽毛或皮屑、新鲜粪便的采样方法参照 NY/T 541 进行。

6.1.4 检测结果存疑，需要进一步确诊时，应结合临床症状和前期检测结果，可采集动物组织或特定样本进行进一步检测。

6.2 实验鱼检测程序

实验鱼检测程序按照图2的规定执行。实验鱼的麻醉应便于检查、采用和满足动物福利伦理的要求。

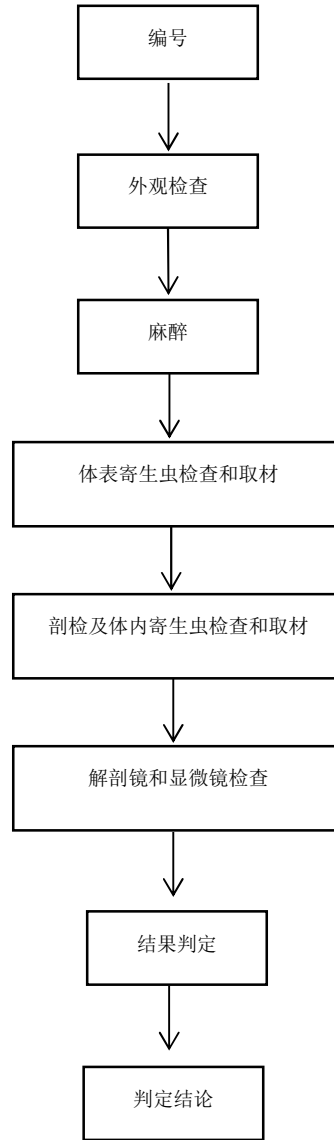


图 2 实验鱼寄生虫学检测程序

7 检测方法

7.1 实验猪和实验小型猪寄生虫学检测方法按照表 9 的规定执行。

表9 实验猪和实验小型猪寄生虫学检测方法

寄生虫	检测方法
体外寄生虫	GB/T 18448.1
旋毛虫	GB/T 18642
弓形虫	GB/T 18448.2
猪囊尾蚴	GB/T 18644
球虫	GB/T 18647
小袋纤毛虫	GB/T 18448.10
贾第虫	GB/T 18448.10
阿米巴原虫	GB/T 18448.9
隐孢子虫	NY/T 1949
蠕虫	GB/T 18448.6

7.2 实验牛和实验羊寄生虫学检测方法按照表 10 的规定执行。

表10 实验牛和实验羊寄生虫学检测方法

寄生虫	检测方法
体外寄生虫	GB/T 18448.1
棘球蚴	NY/T 1466
弓形虫	GB/T 18448.2
隐孢子虫	NY/T 1949
球虫	GB/T 18647
梨形虫	SN/T 3485
新孢子虫	SN/T 3499
贾第虫	GB/T 18448.10
锥虫	GB/T 23239
蠕虫	GB/T 18448.6

7.3 实验狨猴寄生虫学检测方法按照表 11 的规定执行。

表11 实验狨猴寄生虫学检测方法

寄生虫	检测方法
体外寄生虫	GB/T 18448.1
弓形虫	GB/T 18448.2
疟原虫	GB/T 18448.7
蠕虫	GB/T 18448.6
鞭毛虫	GB/T 18448.10
球虫	GB/T 18647

7.4 实验长爪沙鼠寄生虫学检测方法按照表 12 的规定执行。

表12 实验长爪沙鼠寄生虫学检测方法

寄生虫	检测方法
体外寄生虫	GB/T 18448.1
弓形虫	GB/T 18448.2
兔脑原虫	GB/T 18448.3
蠕虫	GB/T 18448.6
鞭毛虫和纤毛虫	GB/T 18448.10
卡氏肺孢子虫	GB/T 18448.4

7.5 实验雪貂寄生虫学检测方法按照表 13 的规定执行。

表13 实验雪貂寄生虫学检测方法

寄生虫	检测方法
体外寄生虫	GB/T 18448.1
弓形虫	GB/T 18448.2
蠕虫	GB/T 18448.6
鞭毛虫	GB/T 18448.10
球虫	GB/T 18647

7.6 实验猫寄生虫学检测方法按照表 14 的规定执行。

表14 实验猫寄生虫学检测方法

寄生虫	检测方法
体外寄生虫	GB/T 18448.1
华支睾吸虫	SN/T 2975
弓形虫	GB/T 18448.2
鞭毛虫和纤毛虫	GB/T 18448.10
蠕虫	GB/T 18448.6
兔脑原虫	GB/T 18448.3
球虫	GB/T 18647

7.7 实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽寄生虫检测方法按照表 15 的规定执行。

表15 实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽寄生虫检测方法

寄生虫	检测方法
体外寄生虫	GB/T 18448.1
弓形虫	GB/T 18448.2
球虫	GB/T 18647

表 15 实验鸡、实验鸭、实验鹅和实验鸽寄生虫检测方法（续）

寄生虫	检测方法
阿米巴原虫	GB/T 18448.9
蠕虫	GB/T 18448.6
隐孢子虫	NY/T 1949
住白细胞虫	SN/T 1225
组织滴虫	附录 A
毛滴虫	附录 B
疟原虫	附录 C

7.8 实验鱼寄生虫学检测按照附录 D 的规定执行。

8 检测规则

8.1 检测频率

每3个月应至少检测1次。

8.2 抽样

8.2.1 抽样要求

按寄生虫和微生物采样要求联合抽样。抽样月龄符合表16的要求。

表16 实验动物抽样月龄

动物种类	抽样月龄
实验小型猪	≥6
实验猪	≥2
实验牛	≥6
实验羊	≥2
实验狨猴	≥6
实验长爪沙鼠	≥2
实验猫	≥6
实验雪貂	≥6
实验鸡	≥1
实验鸭	≥1
实验鹅	≥1
实验鸽	≥1
实验鱼	应选择3月龄以上的成鱼，必要时同时取饲养环境水样用于检测；应在不同的水环境内随机抽样。

8.2.2 抽样方法

抽样方法按照NY/T 541的规定执行。

8.2.3 抽样数量

实验鱼抽样数量：同一水环境实验鱼数量少于100尾，则抽样5尾；大于等于100尾，则按5%比例抽取，最大抽样量为30尾。其他动物抽样数量符合表17的要求。

表17 实验动物抽样数量

群体大小（只/头/羽）	抽样数量（只/头/羽）
<100	≥5
100~500	≥10
>500	≥15

8.3 送检要求

样品和送检单一同送达具备检测能力的实验室，送检单应写明检品名称、品系、等级、数量及检测项目等内容。

9 结果判定

9.1 抗体检测

血清样品经间接血凝实验（Indirect Hemagglutination Assay, IHA）、酶联免疫吸附测定（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA）或间接免疫荧光（Indirect Fluorescence Assay, IFA）检测，血清抗体阴性判为合格。

9.2 虫体和虫卵检查

经检测，未检出虫体、虫卵，判为合格。

9.3 病原体核酸 聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction, PCR）检测

经检测，未见阳性结果判为合格。

10 结论与报告

10.1 结论

按照检测规则，检测指标均合格，依据表1~表8，判为符合相应等级的实验动物。

按照检测规则，若检测指标有1项（含）以上不合格，依据表1~表8，判为不符合相应等级的实验动物。

10.2 报告

根据检测结果出具检测报告。

附 录 A
(规范性)
实验鸡的组织滴虫检测

A.1 仪器设备和材料

显微镜, PCR仪, 凝胶电泳仪, 凝胶成像仪, 测序仪, 载玻片, 盖玻片, 生理盐水, 15%的甲醛固定液, 乙醇, 二甲苯, 苏木素, 盐酸, 伊红, 中性树脂, 石蜡, 姬姆萨染液, 动物组织基因组提取试剂盒, DNA聚合酶, dNTP, 聚合酶缓冲液, 琼脂糖等。

A.2 检查步骤

A. 2.1 外观检查

从精神状态、行为、被毛和天然孔分泌物对实验鸡进行外观检查。

A. 2.2 剖检和病理检查

剖检实验鸡, 进行病理学大体观察。观察肝脏是否肿大, 表面是否有黄褐色坏死灶; 观察盲肠是否肿胀, 肠腔内是否有干酪样物。

A. 2.3 虫体检查

宜采用以下三种方法:

——取剖检的实验鸡盲肠, 除去内容物后取盲肠粘膜表面的刮取物于载玻片上, 滴加40℃的生理盐水稀释, 显微镜下观察是否有活动的组织滴虫虫体存在。

——取剖检的实验鸡的肝组织涂片进行姬氏染色, 显微镜下观察是否有组织滴虫虫体存在。

——取剖检的实验鸡的肝脏和盲肠组织制作组织切片并进行H.E.染色, 显微镜下观察是否有组织滴虫虫体存在。

A. 2.4 核酸检测

取剖检的实验鸡肝脏或盲肠组织样品, 提取基因组DNA, 用针对火鸡组织滴虫18S rRNA基因序列(GenBank: HG008098.1)的特异性引物对(5'-GGCGAAAGCATCTATCAAGTGG-3'; 5'-CTCGTCGGCATAGTTTAAGGTAGG-3')进行PCR检测, 扩增产物进行凝胶电泳并测序分析。

A.3 检测结果

若有火鸡组织滴虫感染, 典型病理变化为肝脏肿大, 呈深紫褐色, 表面有大小不一的黄褐色坏死灶, 坏死灶中央稍向下陷, 有的坏死灶周围有出血带; 盲肠外观明显肿大, 触之坚硬, 呈香肠状, 粗细不均, 肠腔内有干酪样物充塞, 可怀疑为阳性, 需通过下列任意一种方法验证:

——若有火鸡组织滴虫感染, 盲肠粘膜刮取物或肝脏抹片在显微镜油镜下可见单个或成簇分布的虫体, 大小为6 μm~20 μm。或组织切片中发现虫体, 呈不规则圆形或椭圆形, 胞质中有囊泡状核。虫体呈圆形, 淡玫瑰色, 有细胞质和细胞核, 判为阳性。反之则为阴性。

——若有火鸡组织滴虫感染, PCR扩增获得的片段大小为106 bp, 所测得的DNA序列应为火鸡组织滴虫的18S rRNA基因序列, 判为阳性。反之则为阴性。

附录 B
(规范性)
实验鹅的毛滴虫检测

B.1 仪器设备和材料

生物显微镜，生理盐水，载玻片，盖玻片。

B.2 检测步骤

用生理盐水浸湿的棉签刮取实验鹅口腔或嗉囊粘液，置于载玻片上制成压片，在400倍光学显微镜暗视野观察。

B.3 检测结果

在镜下看到有呈圆形或梨状可活动的虫体，前端有4根比虫体长2~3倍的鞭毛，且有活动性，结果为阳性；反之为阴性。

附录 C

(规范性)

实验鸽的疟原虫检测

C.1 仪器设备和材料

生物显微镜, 载玻片, 盖玻片, 甲醇, 姬氏染液。

C.2 检测步骤

C.2.1 厚、薄血膜的涂制

取4 μL ~5 μL 鸽血, 使血滴与平置的载玻片接触, 再由里向外一个方向旋转, 转2~4圈, 涂成直径0.8 cm~1 cm大小圆形厚血膜。在同一玻片的另一区域, 取约1 μL ~1.5 μL 的血量, 使血滴与平置的载玻片接触, 并形成25°~35° 夹角, 待血液向两侧扩展约2 cm~2.5 cm宽时, 均匀而迅速地从右向左推成舌状薄血膜。

C.2.2 血膜涂片的染色和观察

用甲醇固定血膜, 然后用姬氏染液染色30 min, 随后水洗2 min~3 min。干燥后的染色涂片在显微镜下观察。

C.3 检测结果

在镜下看到占据红细胞的细胞核以外空间的虫体, 后者依据其发育阶段不同呈现不同的大小和形态, 结果为阳性; 反之为阴性。

附录 D
(规范性)
实验鱼的寄生虫检测

D.1 体表寄生虫的检查

D.1.1 肉眼检查

D.1.1.1 将待检鱼麻醉后放在解剖盘上，肉眼检查鳞片和鳍条上是否有白色包囊和寄生虫存在。

D.1.1.2 体表检查之后，将鳃盖掀起，注意鳃的色泽，粘液的多少，有无白点，鳃有无肿大，鳃丝末端是否肿大发白及是否有异物存在等变化。

D.1.2 显微镜检查

D.1.3 鳞片和鳍条：采用水浸片法，即用解剖刀或镊子刮取鳞片和鳍条上的粘液，放于载玻片上，加一滴清水或生理盐水，用镊子将组织分散，加上盖玻片，在体视显微镜下观察。

D.1.4 鳃：先用剪刀将左右两边的鳃完整地取出，放在培养皿里。在每边鳃的第一片鳃片接近两端的位置用小剪刀取一小块鳃丝，放在载玻片上，加上少量清水，盖上盖玻片，在显微镜下检查。然后将鳃小片逐片剪开，在体视显微镜下用两根解剖针，把鳃丝逐条分开，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，在解剖镜下进行检查。

D.1.5 检查单殖吸虫时，可用清水洗涤数次，倒弃上清液后在解剖镜下检查。

D.2 体内寄生虫的检查

D.2.1 根据部位和组织采用不同的方法检查体内寄生虫。

D.2.2 眼球：采用水浸法，即将鱼体的眼球取下，放在盛有生理盐水的培养皿中，待寄生虫游离出来后，在体视显微镜下观察。

D.2.3 体腔、脏器、生殖腺和鳔：首先采用肉眼观察，看组织表面有没有肉眼可见的白色包囊和寄生虫；然后将体腔用生理盐水冲洗，并盛在培养皿中，其他组织用生理盐水浸泡在培养皿中，待寄生虫游离出来后，在体视显微镜下观察。

D.2.4 肠道：先用肉眼检查，看肠外壁有无白点，这些白点通常是微孢子虫或粘孢子虫的孢囊。肠道内的寄生虫检测采用压片法，先把肠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，妨碍观察。除净脂肪组织后，将肠管剪开，如果内含物不多，用解剖刀将内含物和肠壁上的粘液都刮下来，用两片玻片压成薄片，在解剖镜下直接检查寄生蠕虫；如果肠内含物较多，则应将肠的内含物先取下来，放在培养皿里，用生理盐水冲洗搅匀，在显微镜下检查寄生虫。

D.3 检测结果

观察发现有寄生虫者，结果为阳性；反之为阴性。

参 考 文 献

- [1] GB 14925—2010 实验动物 环境及设施
-