



中华人民共和国国家标准

GB/T 18448.1~18448.10—2001

实验动物 寄生虫学检测方法

Laboratory animal—Parasitological examination methods

2001-08-29 发布

2002-05-01 实施



中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局

发布

目 录

GB/T 18448.1—2001	实验动物	体外寄生虫检测方法	1
GB/T 18448.2—2001	实验动物	弓形虫检测方法	5
GB/T 18448.3—2001	实验动物	兔脑原虫检测方法	9
GB/T 18448.4—2001	实验动物	卡氏肺孢子虫检测方法	12
GB/T 18448.5—2001	实验动物	艾美耳球虫检测方法	14
GB/T 18448.6—2001	实验动物	蠕虫检测方法	16
GB/T 18448.7—2001	实验动物	疟原虫检测方法	20
GB/T 18448.8—2001	实验动物	犬恶丝虫检测方法	23
GB/T 18448.9—2001	实验动物	肠道溶组织内阿米巴检测方法	25
GB/T 18448.10—2001	实验动物	肠道鞭毛虫和纤毛虫检测方法	27

前 言

本标准由 GB/T 14926.33—1994《实验动物 体外寄生虫检验方法》修订而成。

本标准增加了犬和猴体外寄生虫的检测内容及犬、猴中常见寄生虫的描述。

本标准增加了检测原理。将几种常见实验动物寄生螨的形态特征描述作为附录,供参考。

本标准的附录 A 是提示的附录。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:李冠民、诸欣平、潘振业、刘兆铭。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

1 范围

本标准规定了实验动物体外寄生虫的取样、检测方法及结果判定标准。

本标准适用于小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬及猴等实验动物体外寄生虫的检测。

2 原理

寄生部位取样,用显微镜观察,直接查找虫体或虫卵。

3 材料和试剂

3.1 显微镜。

3.2 载玻片、盖玻片。

3.3 透明胶带(约2 cm宽)。

3.4 甘油。

3.5 2.5 mol/L 氢氧化钠溶液。

4 检测步骤

4.1 肉眼观察

用肉眼或借助于放大镜对动物进行仔细观察。体外寄生虫感染严重时,可引起动物脱毛、毛糙甚至由搔痒引起溃疡、结痂。检查时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。用梳子梳理动物毛发可发现蚤、虱和螨等节肢类寄生虫。

4.2 取样

4.2.1 透明胶带粘取法取样(适用于小动物)

将透明胶带剪成与载玻片近等长的胶条,贴于载玻片上,将其一端胶面相对反折约0.5 cm(便于揭拉)。用时拉住重叠部分揭开胶带(使其另一端仍粘在载玻片上),在待检动物的易感染部位依次按压,并逆毛向用力粘取,拔下少许被毛为宜。然后将胶带复位于载玻片上,不要留有气泡或皱褶,编号待检。

4.2.2 拔毛取样(适用于较大动物)

用镊子在实验动物易感染部位分别拔取少许被毛,散放于载玻片上,用透明胶带压住(或加一滴生理盐水后,覆以盖玻片),编号待检。

4.2.3 刀片刮取皮层物取样(适用于皮层内寄生螨类的检测)

用解剖刀或刀片刮取动物溃疡或结痂部位深层碎屑或挤破脓疮取其内容物,置于干净载玻片上,加两滴2.5 mol/L 氢氧化钠溶液使之液化(或加两滴甘油使之透明),然后覆以盖玻片,编号待检。

4.2.4 除以上方法外,其他方法(如适用于小动物的黑背景检查法、解剖镜下整体检查法等)可参考使用,以提高准确性。

5 结果判定

用光学显微镜对取样标本片进行仔细检查,综合肉眼观察结果,凡发现虫卵、幼虫、若虫、成虫均为阳性。常见实验动物寄生螨的主要形态特征见附录 A(提示的附录),其他节肢类寄生虫的形态参考有关资料。

6 结果报告

根据判定结果,作出报告。

附录 A

(提示的附录)

几种常见实验动物寄生螨的特征描述

表 A1 几种常见实验动物寄生螨的主要特征

	鼠癣螨 <i>Myocptes musculinus</i>	鼠肉螨 <i>Myobia musculi</i>	拉德佛螨 <i>Radfordia spp.</i>	兔痒螨 <i>Psoroptes cuniculi</i>	犬蠕形螨 <i>Demodex canis</i>
成虫大小	♀ 约 0.3 mm × 0.17 mm ♂ 约 0.2 mm × 0.14 mm	♀ 长 0.4 ~ 0.5 mm ♂ 长 0.28 ~ 0.3 mm	♀ 似鼠肉螨 ♂ 似鼠肉螨	♀ 约 0.7 mm × 0.5 mm ♂ 约 0.6 mm × 0.4 mm	♀ 约 0.18 mm × 0.3 mm ♂ 约 0.22 mm × 0.26 mm
主要形态特征	♀ 虫第一二对足简单,第三四对足呈黑棕色,强几丁质化,呈钩夹样。♂ 虫前三对足与♀ 虫相同,第四对足粗壮,向后包绕成抱握器,体后两对长刚毛,而♀ 虫为一对	第一对足短小,向前伸,各足间呈叶状突起,第二对足末端无爪,仅一爪间垫样结构,体后两对足具两根长刚毛,♂ 虫两毛基距较♀ 虫近	第二对足末端爪以及腹部背毛的形态特点可作种内和种间区别,其他特征同鼠肉螨	♀ 虫第三对足有较长的刚毛,无吸盘。♂ 虫第四对足无吸盘,明显短于第三对足,其余各足末端都有钟状吸盘。体后缘具两个叶状突起	体细长呈蠕虫状,乳白色,半透明,颚体宽短,位于躯体前方,体后部呈细窄有环节状结构。有四对足,位于体前部腹面。♀ 生殖孔位于腹面第四对足之间。♂ 阴茎位于体背面的第二对足之间
虫卵特征	椭圆形,粘于毛发中段,大小约 0.2 mm × 0.5 mm,淡黄色	长卵形,粘于毛发基部,白色,大小约 0.2 mm × 0.1 mm	与鼠肉螨相似	椭圆形,大小约 0.3 mm × 0.1 mm	无色半透明,呈蘑菇状,长约 0.1 mm,最宽处 0.04 mm
宿主种类	小鼠	小鼠	大鼠、小鼠	兔	犬
常见寄生部位	肩、颈部、臀部	耳后、颈部、口周	耳后、颈部、口周	耳部、并可蔓延到头及全身	面部、耳部的毛囊内
主要症状	瘙痒,肩、背部脱毛,重者引起皮肤溃疡	瘙痒,脱毛,过敏、皮炎等	瘙痒,脱毛、过敏、皮炎等	皮肤充血,结黄色疮痂等	脱毛、皮脂溢出、银白色粘性皮屑脱落

前 言

本标准由 GB/T 14926.34—1994《实验动物 弓形体检验方法》修订而成。

本标准删除了 GB/T 14926.34—1994 中“注意事项”的所有内容,增加了检测原理和间接免疫荧光法(IFA),以及犬、猴等实验动物的弓形虫检测内容。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:屈霞琴、李冠民、诸欣平、潘振业、刘兆铭。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

1 范围

本标准规定了实验动物弓形虫的间接血凝(IHA)法和间接免疫荧光法(IFA)检测方法。
本标准适用于小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬及猴等实验动物弓形体的检测。

2 材料和试剂

- 2.1 弓形虫抗原致敏绵羊或人红细胞。
- 2.2 正常对照绵羊红细胞。
- 2.3 阳性对照血清。
- 2.4 阴性对照血清。
- 2.5 稀释液:含1%健康兔血清的磷酸盐缓冲液(PBS:1/15 mol/L Na_2HPO_4 7.3 mL;1/15 mol/L KH_2PO_4 2.7 mL;蒸馏水 90 mL)。
- 2.6 微量血凝试验反应板。
- 2.7 微量加样器。
- 2.8 无菌试管、吸管。
- 2.9 振荡器和冰箱。
- 2.10 荧光显微镜。

3 间接血凝法(IHA)

3.1 原理

在一定条件下,抗原可致敏绵羊(或人)红细胞,致敏红细胞遇相应抗体时,产生凝集反应。

3.2 取样

无菌采血约1 mL(小鼠、大鼠、地鼠眼部采血;豚鼠心脏采血;兔、犬及猴耳部采血),斜放待凝,4℃冰箱中过夜。

3.3 分离血清

无菌条件下将冰箱中过夜后的血样管中的血清轻轻吸到另一无菌试管中。

3.4 灭活血清

将分离出的血清,置56℃恒温水浴中灭活30 min。

3.5 IHA 试验

以稀释液在微量反应板中依次对每份血清进行倍比稀释,每份血清稀释两横排,每孔最后留量为0.025 mL。设阳性血清、阴性血清、空白对照各一孔。第一横排滴加弓形虫致敏绵羊(或人)红细胞0.025 mL,第二横排滴加正常对照绵羊红细胞0.025 mL。然后将加好样品的微量反应板置振荡器上振荡3 min~5 min,使抗原抗体(即致敏红细胞与待检的稀释血清)充分混合,15℃~28℃室温下过夜后观

察结果。

3.6 结果记录

3.6.1 红细胞呈膜状均匀沉于孔底,中央无沉点或沉点小如针尖,记为“++++”。

3.6.2 红细胞虽呈膜状沉着,但颗粒较粗,中央沉点较大,记为“+++”。

3.6.3 红细胞部分呈膜状沉着,周围有凝集团点,中央沉点大,记为“++”。

3.6.4 红细胞沉集于中心,周围有少量颗粒状沉着物,记为“+”。

3.6.5 红细胞沉集于中心,周围无沉着物,分界清楚,记为“-”。

3.6.6 出现“++”孔的血清最高稀释倍数定为本间接血凝试验的凝集效价。 $\leq 1:16$ 为阴性; $1:32$ 为可疑; $\geq 1:64$ 为阳性。

4 间接免疫荧光法(IFA)

4.1 原理

固定在玻片上的虫体含特异性抗原,遇相应抗体后形成抗原抗体复合物,可与相应的第二抗体荧光素结合物结合。在荧光显微镜下可观察到有无荧光及其强弱程度。

4.2 IFA 玻片抗原的制备

弓形虫 RH 株腹腔接种小鼠,3~5 d 天后处死,收取虫体,胰酶消化,一定浓度涂片,充分晾干后丙酮固定,备用。

4.3 阳性血清

自然感染弓形虫的动物抗体阳性血清或弓形虫免疫血清。

4.4 阴性血清

确证无弓形虫感染的动物血清。

4.5 荧光结合物

4.5.1 抗小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬和猴 IgG 异硫氰酸荧光素结合物用于检查相应实验动物血清抗体。使用时用含 1/2 000 伊文思蓝 pH 7.2 磷酸盐缓冲液(PBS)稀释至合适浓度。

4.5.2 荧光结合物的滴定:在已制备的弓形虫抗原玻片上滴加 1:10 的弓形虫阳性血清、阴性血清和 PBS 对照,参照荧光结合物的工作效价做系列稀释,然后滴加以上各孔内,最后选择荧光强度为“++++”最高稀释度的结合物为正式试验用的稀释度。

4.6 操作步骤

滴加待检血清(1:10)、已知阳性、阴性血清和 PBS 于抗原玻片上

↓保温 37℃ 30 min~45 min(玻片置于湿盒内)

用洗液(PBS)漂洗 3 次,每次 5 min

↓甩干

加荧光结合物

↓保温 37℃ 30 min~45 min

用洗液(PBS)漂洗 3 次,每次 5 min,水洗 1 次

↓甩干

滴 50%甘油 PBS 后,覆以盖玻片封片

↓

荧光显微镜镜检

4.7 结果记录

荧光显微镜下,在抗原片上的弓形虫虫体呈黄绿荧光,以待检血清 1:10 稀释检测到虫体为阳性。

5 结果判定

待检样品用一种方法检测出现可疑或阳性时,应选用同一种或另一种方法重试,重试阳性则为阳性。

6 结果报告

根据判定结果,作出报告。

前 言

本标准由 GB/T 14926.35—1994《实验动物 兔脑胞内原虫检验方法》修订而成。

本标准删除了原标准中不宜操作的“3.1.1 活体动物的取样”的有关内容。将“脑胞内原虫”改为“脑原虫”。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位：中国实验动物学会。

本标准主要起草人：李冠民、诸欣平、潘振业、刘兆铭。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

1 范围

本标准规定了兔脑原虫的取样、染色检测方法及结果判定,并描述了其形态特征。
本标准适用于兔脑原虫的检测。

2 原理

主要在腹腔巨噬细胞内增殖的脑原虫,通过涂片染色可直接用显微镜观察。

3 材料和试剂

3.1 载玻片。

3.2 甘油。

3.3 甲醇。

3.4 姬姆萨(Giemsa)染液:姬姆萨染剂粉 1 g
纯甘油 50 mL
甲醇 50 mL

3.5 姬姆萨稀释液:15~20份PBS液与1份姬姆萨染液充分混合。

3.6 显微镜。

4 检测步骤

4.1 取样

麻醉处死动物,立即打开腹腔,用吸管吸取少许腹腔液涂片,或用干净载玻片在动物腹腔脏器表面轻压一下,制成压印片,编号。

4.2 固定和染色

涂片或压印片晾干,用甲醇固定5 min,中性缓冲液冲洗,晾干。姬姆萨稀释液染色15 min~20 min,中性缓冲液冲去多余染液,蒸馏水冲洗,晾干。

也可取兔脑组织固定,常规石蜡切片,HE染色。

5 结果判定

在光学显微镜高倍镜或油镜下对染好的涂片、压印片或组织切片进行仔细检查,在腹腔巨噬细胞或脑细胞胞质内查找原虫子孢子,检查到孢子或滋养体都判为阳性。

兔脑原虫的孢子为卵圆形或杆形,平均大小为 $1.5\ \mu\text{m}\sim 2.5\ \mu\text{m}$,内有一核及少量空泡,囊壁厚,两端或中间有少量空泡;一端有极体,由此发出极丝,沿内壁盘绕。极丝常自然伸出。该虫在宿主脑细胞或腹腔巨噬细胞胞质内行孢子生殖,姬姆萨染色将孢子染成蓝色。检查中在巨噬细胞内常见的是假包囊

(直径约 30 μm),无囊壁,上百个滋养体聚积在一起。

6 结果报告

根据判定结果,作出报告。

前 言

本标准由 GB/T 14926.36—1994《实验动物 卡氏肺孢子虫检验方法》修订而成。

本标准增加了实验动物处死前的麻醉。将原标准中“腹部消毒”改为“胸部消毒”，删除“暴露胸腔内容物”。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位：中国实验动物学会。

本标准主要起草人：李冠民、诸欣平、潘振业、刘兆铭。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

实验动物 卡氏肺孢子虫检测方法

代替 GB/T 14926.36—1994

Laboratory animal—Method for examination of *Pneumocystis carinii*

1 范围

本标准规定了实验动物的卡氏肺孢子虫的检测方法和结果判定,并描述了其形态特征。
本标准适用于小鼠、大鼠、地鼠等实验动物的卡氏肺孢子虫的检测。

2 原理

主要寄生于肺细胞内(或释放于细胞外)的卡氏肺孢子虫经固定、染色,可直接在显微镜下观察。

3 材料和试剂

3.1 显微镜。

3.2 载玻片。

3.3 姬姆萨稀释液。

4 检测步骤

4.1 取样

麻醉处死动物,胸部消毒,切开胸腔,取出肺脏,用生理盐水冲洗。用手术刀切开肺脏的各叶,分别涂压在同一载玻片上,自然干燥。

4.2 固定和染色

将自然干燥后的肺印片,用甲醇固定 5 min,然后自来水冲洗,自然干燥。用姬姆萨稀释液染色 15 min~20 min,自来水冲洗,干燥待检。

5 结果判定

经染色后的肺印片,油镜检查。此方法可检查出卡氏肺孢子虫的包囊和滋养体。在显微镜下检查到包囊或滋养体皆为阳性。

包囊为圆形或卵圆形,直径 $4\ \mu\text{m}$ ~ $8\ \mu\text{m}$,平均 $5.5\ \mu\text{m}$,内含一些细胞质、残余线粒体和新月形囊内小体,数目 2~8 个,成熟包囊含 8 个囊内小体,呈半圆形。姬姆萨染色细胞质呈浅蓝色,细胞核呈深紫色,囊壁不着色。

滋养体大小为 $1.2\ \mu\text{m}$ ~ $5.0\ \mu\text{m}$ 。单核,有一个核仁,胞质中还有一些糖原颗粒与脂肪粒。

6 结果报告

根据结果判定,作出报告。

GB/T 18448.5—2001

前 言

本标准由 GB/T 14926.37—1994《实验动物 爱美尔球虫检验方法》修订而成。

本标准将原标准中“爱美尔球虫”改为“艾美耳球虫”。同时修改了解剖方法、采样方法及卵囊形态描述。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位：中国实验动物学会。

本标准主要起草人：李冠民、诸欣平、潘振业、刘兆铭。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

实验动物 艾美耳球虫检测方法

代替 GB/T 14926.37—1994

Laboratory animal—Method for examination of *Eimeria* spp.

1 范围

本标准规定了兔艾美耳球虫检测方法和结果判定,并描述了其形态特征。
本标准适用于兔的艾美耳球虫的检测。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 18448.6—2001 实验动物 蠕虫检测方法

3 材料和试剂

3.1 显微镜。

3.2 载玻片。

3.3 解剖用具。

4 检测步骤

4.1 取样

收集新鲜兔粪,压碎,混匀,称取 2 g 于漂浮管中,不能立刻检测的标本可在漂浮管内滴加 1~2 滴生理盐水,密封后于 4℃ 保存,时间不超过 2 d。

4.2 饱和盐水漂浮法

方法见 GB/T 18448.6—2001 中 3.2.3。在静置 20 min 后用接种环沾取表面液膜,抖落于载玻片上镜检。

4.3 解剖法

麻醉、解剖后发现有关节病灶的兔肝脏,取病变组织直接涂片镜检。

5 结果判定

在显微镜下检查到球虫卵囊即为阳性。

卵囊呈椭圆形、卵圆形或近球形,壁两层厚薄不均。卵囊内有 4 个孢子囊,每个孢子囊内有 2 个子孢子。微孔、残体等的有无,视虫种而定。

6 结果报告

根据结果判定,作出报告。

前 言

本标准由 GB/T 14926.38—1994《实验动物 肠道蠕虫检验方法》修订而成。

本标准将原标准中“肠道蠕虫”改为“蠕虫”。同时将鼠膀胱线虫的检测方法一起纳入到本标准中,废除了 GB/T 14926.39—1994《实验动物 鼠膀胱线虫检验方法》。增加了肝囊虫的检测以及犬、猴等实验动物的蠕虫检测的内容。补充了沉淀集卵法和直接涂片法。

将常见实验动物寄生蠕虫虫卵的形态特征作为提示的附录列出,除标准中列出的种类外,检查到其他种类的蠕虫或虫卵,也一律判为阳性。

本标准附录 A 是提示的附录。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:李冠民、诸欣平、潘振业、刘兆铭。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

实验动物 蠕虫检测方法

Laboratory animal—Method for examination of helminth

1 范围

本标准规定了实验动物蠕虫的检测方法和结果判定,并描述了实验动物常见蠕虫的形态特征。
本标准适用于小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬及猴等实验动物蠕虫的检测。

2 原理

肉眼直接观察和显微镜下观察结合。

3 材料和试剂

3.1 显微镜。

3.2 试管(可用青霉素瓶代替)。

3.3 透明胶纸。

3.4 饱和盐水。

4 检测步骤

4.1 粪便检测

4.1.1 标本采集

a) 小鼠、大鼠、地鼠粪便采集提起尾部,动物即可排出粪便。小鼠取粪便约0.1g,大鼠、地鼠取粪便约0.3g,置于漂浮管中编号待检。

b) 豚鼠、兔粪便采集将豚鼠单个放置于洁净笼舍中,数小时后取笼内新鲜粪便2g于漂浮管中编号待检。

c) 犬、猴粪便采集到饲养笼内现场采集犬、猴的新鲜粪便适量,置于容器内编号待检。

4.1.2 标本的保存

不能立刻检测的标本,可在漂浮管内加入2~3滴生理盐水,密封,置4℃冰箱保存,时间不能超过2d。

4.1.3 样品检测

a) 饱和盐水漂浮法检测 在有粪便标本的漂浮管内加少许饱和盐水并调匀,加饱和盐水至漂浮管3/4处,放置3min~5min。挑去粗渣,加饱和盐水至液面微高出管口,取盖玻片轻轻压于液面,静置20min;将盖玻片垂直提起,放在载片上于镜下检查;再次搅拌粪液,加饱和盐水至微高出管口,压第二张盖玻片,20min后镜下检查。

b) 沉淀集卵法检测 取待检粪便标本置于相应大小的烧杯中,加入少量蒸馏水调为糊状,再加水调稀,经铜丝筛(40~60目)过滤倒入尖底量杯中,静置20min后,倒去上清液,残渣中再加入蒸馏水,调匀,过滤,静置20min。重复3~4次,直至上层液体变清。最后倒去上层液,取做涂片镜检。

4.2 透明胶纸粘取

将 5 cm×2.5 cm 的透明胶纸粘在载玻片上,胶纸的一端反折 0.5 cm,以便揭取胶纸,检查时揭下胶纸在动物肛门周围粘取数次,再将其复位于载片上,于显微镜下检查。主要检测隐匿管状线虫虫卵。

4.3 解剖检测

动物麻醉处死后,剖开腹腔,首先检查腹膜及各脏器表面,视有无结节。动物肝脏表面有巨颈囊尾蚴 (*Cysticercus fasciolaris*) 寄生时,可见其外观呈豆粒大小的白色囊泡,剖开囊泡可见其内有一条带状幼虫(偶有多个囊泡)。然后,取下动物(主要是大鼠)膀胱和肾脏,放入盛有生理盐水的平皿内,剪开膀胱和肾脏,用肉眼或借助于放大镜或解剖镜,检查膀胱内壁皱褶及肾盂内有无乳白色线形虫体(鼠膀胱线虫 *Trichosomoides crassicauda*)。

4.4 直接涂片

同 GB/T 18448.10—2001 中的检测方法。

5 结果判定

实验动物常见寄生蠕虫的形态特征见附录 A(提示的附录)。实验动物寄生蠕虫的种类很多,除表 A1 中描述的种类外,其他种类也可检查到。无论何种方法检测,只要用肉眼或用显微镜下检查到虫体或虫卵一律判为阳性。

6 结果报告

根据结果判定,作出报告。

附录 A

(提示的附录)

几种常见实验动物肠道蠕虫的虫卵形态特征描述

表 A1 几种常见实验动物肠道蠕虫的虫卵形态特征

名称	大小	形态	内含物	其他	适用方法
隐匿管状线虫 <i>Syphacia obvelata</i>	134 μm \times 36 μm	肾形 不对称	发育中的幼虫	两端尖	粘取、涂片、漂浮
鼠管状线虫 <i>S. muris</i>	75 μm \times 29 μm	肾形 不对称	发育中的幼虫	两端较锐	粘取、涂片、漂浮
四翼无刺线虫 <i>Aspicularis tetraptera</i>	(70~98) μm \times (28~50) μm	椭圆	桑椹期胚细胞	胚细胞与卵壳间有空隙	涂片、漂浮
微小膜壳绦虫 <i>Hymenolepis nana</i>	(48~60) μm \times (36~38) μm	圆或椭圆	六钩蚴	胚膜两端发出4~6根丝状物	涂片、漂浮
缩小膜壳绦虫 <i>H. diminuta</i>	58 μm ~ 70 μm	圆	六钩蚴	胚膜无丝状物	涂片、漂浮
疑似栓尾线虫 <i>Passalurus ambiguus</i>	(95~103) μm \times 43 μm	一侧扁平, 对称	桑椹期胚细胞或发育期幼虫	卵膜与卵壳间充满无色透明胶质物	涂片、漂浮
犬钩口线虫 <i>Ancylostoma caninum</i>	(56~76) μm \times (36~40) μm	椭圆形, 壳薄, 无色透明	多为 8 个卵细胞	卵壳与细胞间有明显的空隙	涂片、漂浮
犬弓首蛔虫 <i>Toxocara canis</i>	(68~85) μm \times (64~72) μm	椭圆形, 壳厚	卵细胞	表面有许多凹陷呈麻点状	涂片、漂浮、沉淀
犬复孔绦虫 <i>Dipylidium caninum</i>	35 μm ~ 50 μm	圆球形, 透明, 两层薄的卵壳	六钩蚴	常 2~40 个卵聚集在一起	涂片、漂浮
猴结节线虫 <i>Oesophagostomum apistomum</i>	(60~68) μm \times (27~40) μm	长圆形	桑椹胚细胞		涂片、漂浮、沉淀
粪类圆线虫 <i>Strongyloides stercoralis</i>	(50~70) μm \times (30~40) μm	椭圆形, 壳薄, 无色透明	多个卵细胞	部分卵内含幼胚	涂片、漂浮
鼠膀胱线虫 <i>Trichosomoides crassicauda</i>	约 30 μm	卵圆形, 暗棕色、外壳厚, 两端有塞	卵细胞或幼虫		尿液涂片, 膀胱剖检

前 言

本标准规定了疟原虫检测方法,是临床常用的检测方法,简便易行,检出率高,不需要特殊的仪器设备,便于推广。

本标准描述了我国非人灵长类中常见的猴诺氏疟原虫和食蟹猴疟原虫的形态特征。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:诸欣平、李冠民、潘振业、刘兆铭。

中华人民共和国国家标准

实验动物 疟原虫检测方法

GB/T 18448.7—2001

Laboratory animal—Method for examination of *Plasmodium* spp.

1 范围

本标准规定了猴疟原虫的检测方法和结果判定,并描述了其形态特征。
本标准适用于猴的疟原虫检测。

2 原理

寄生于红细胞内的各期疟原虫经固定、染色,可在显微镜下直接观察。

3 材料和试剂

- 3.1 显微镜。
- 3.2 载玻片。
- 3.3 染色皿。
- 3.4 消毒取血针。
- 3.5 甲醇固定液。
- 3.6 姬姆萨稀释液。

4 检测步骤

用70%酒精棉球消毒猴耳,用消毒针取血,滴一滴于载玻片上,用一端边缘光滑的载玻片为推片,将血滴推成均匀的薄血膜。待血膜充分晾干后,滴上甲醇固定液,晾干,在血膜上加姬姆萨稀释液,室温下静止30 min后流水冲洗(切勿直接冲在血膜上),晾干后镜检。

5 结果判定

高倍显微镜下仔细检查,发现到任何期的疟原虫都判为阳性。

红细胞内各期猴诺氏疟原虫(*Plasmodium knowlesi*)的形态特征:环状体较小,大小约为红细胞直径的1/5~1/4,核圆形,常位于环内;双核形多见;晚期滋养体空泡渐趋消失,胞质较致密,疟色素颗粒粗大,黑褐色,被寄生的红细胞不胀大,具一茂氏小点;成熟裂殖体所含裂殖子平均10个,多者达16个,疟色素集成一黑色团块;雌配子体呈圆形,充满红细胞,胞质染成蓝色,核位于边缘,疟色素呈黑色颗粒状,分散于胞质内;雄配子体较雌配子体小,胞质浅紫红色,核大,可占虫体一半。

红细胞内各期食蟹猴疟原虫(*Plasmodium cynomolgi*)的形态特征:环状体直径约为红细胞的1/4~1/3,核常为单个,有时为双核;滋养体期虫体伸出伪足,出现分布不均的棕黄色疟色素,红细胞胀大,出现淡红色薛氏小点;成熟裂殖体含裂殖子14~20个,平均16个,疟色素集中成团,位于虫体中央或边缘;雌配子体胞质较致密,染成蓝色,色素多而分散,核致密,常位于边缘;雄配子体胞质常呈淡紫红色,核大而疏松,常占虫体的大部分。

6 结果报告

根据结果判定作出报告。

前 言

本标准规定了犬恶丝虫的检测方法,是临床常用的检测方法,简便易行,不需要特殊的仪器设备,便于推广。

犬恶丝虫虽属于蠕虫类,但由于寄生部位是血液,取样具有特殊要求,因此单独列出。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:诸欣平、李冠民、潘振业、刘兆铭。

中华人民共和国国家标准

实验动物 犬恶丝虫检测方法

GB/T 18448.8—2001

Laboratory animal—Method for examination of *Dirofilaria immitis*

1 范围

本标准规定了犬恶丝虫的检测方法和结果判定,并描述了其形态特征。
本标准适用于实验犬的犬恶丝虫的检测。

2 原理

寄生于血液中的犬恶丝虫在血涂片上可用显微镜直接观察。

3 材料和试剂

3.1 显微镜。

3.2 载玻片。

3.3 消毒取血针。

4 检测步骤

犬恶丝虫微丝蚴随时可出现在宿主末梢血中,但以夜晚较多。由犬耳部针刺取血,滴于载玻片上,制成血涂片标本(注意保温),不必染色,马上镜检,可见到运动非常活泼的幼虫;或制成厚血膜,常规染色镜检。

5 结果判定

显微镜下检查到任何期的丝虫都判为阳性。

微丝蚴大小为(201~332) μm \times 6.8 μm ,无鞘,前端尖,后端钝直,色透明。

6 结果报告

根据判定结果,作出报告。

前 言

本标准规定了肠道溶组织阿米巴的检测方法,同时描述了我国犬猴等实验动物中常见的溶组织阿米巴的形态特征。是临床常用的检测方法,简便易行,检出率高,不需要特殊的仪器设备,便于推广。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:诸欣平、李冠民、潘振业、刘兆铭。

中华人民共和国国家标准

GB/T 18448.9—2001

实验动物 肠道溶组织内阿米巴检测方法

Laboratory animal—Method for examination of *Entamoeba histolytica*

1 范围

本标准规定了肠道溶组织内阿米巴包囊检测的检测方法和结果判定,并描述了其形态特征。
本标准适用于实验犬、猴的肠道溶组织内阿米巴的检测。

2 原理

阿米巴经碘液染色,可在显微镜下直接观察。

3 材料与试剂

3.1 显微镜。

3.2 载玻片、盖玻片。

3.3 碘液:碘化钾 4 g,碘 2 g,蒸馏水 100 mL。

4 检测步骤

滴加一滴碘液于载玻片上,用竹签或牙签挑取少许粪便在碘液中涂抹均匀,加盖玻片后置镜下观察。

5 结果判定

显微镜下检查到包囊即可判为阳性。

包囊直径 $10\ \mu\text{m}\sim 20\ \mu\text{m}$,低倍镜下,包囊呈黄色折光小圆点。高倍镜下可见包囊圆球形,棕黄色,囊壁发亮,不着色,有明显界限,核 1~2 个或 4 个,呈小亮圈状。在有 1~2 个核的包囊内,核较大,常可见到糖原泡和拟染体。糖原泡为棕红色,边界不清楚,呈块状。拟染体为亮棒或亮块状,有折光性。如包囊不典型,应以铁苏木素染色鉴定。

6 结果报告

根据结果判定,作出报告。

前 言

本标准由 GB/T 14926.40—1994《实验动物 肠道鞭毛虫和小袋纤毛虫检验方法》修订而成。

实验动物感染的寄生鞭毛虫和纤毛虫,用直接涂片法很容易检测到。但种类很多,无法一一描述,本标准中仅描述了几个常见代表性种类,除所描述的外,检查到其他种类,也一律判为阳性。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:李冠民、诸欣平、潘振业、刘兆铭。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

1 范围

本标准规定了肠道鞭毛虫及纤毛虫的检测方法和结果判定,并描述了其形态特征。
本标准适用于小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠等实验动物肠道鞭毛虫及纤毛虫的检测。

2 材料和试剂

2.1 显微镜。

2.2 载玻片。

2.3 染色皿。

2.4 Schaudinn 氏固定液

饱和氯化汞水溶液 2 份

95%乙醇 1 份

混匀后每 100 mL 中加入冰乙酸 5 mL。

2.5 苏木素染液

苏木素染料 10 g

95%或 100%乙醇 100 mL

加塞置室温 6~8 周成熟后即可使用。用时 1 份原液加蒸馏水 19 份。

2.6 2%铁明矾溶液

硫酸铁铵 2 g 溶于蒸馏水 100 mL 中,置于棕色瓶中,4℃冰箱保存,以防出现沉积物。

3 检测步骤

3.1 直接涂片

于载玻片上滴加 1 滴生理盐水,可直接取新鲜粪便作涂片检查,或解剖动物后立即用接种环挑取新鲜小肠、盲肠、结肠内容物,分别与生理盐水混合涂制成薄而均匀的粪膜。盖上盖玻片后于显微镜下检查。

3.2 苏木素染色

用牙签挑取粪便少许,如粪便不易粘于玻片上,可加入适量的血清,均匀涂抹于载玻片上;将粪膜立刻放入 40℃ Schaudinn 氏液中 3 min~5 min;

置于 50%、70%酒精中各 10 min;

置于 70%碘酒精中 10 min;70%酒精中 1 h 或过液(也可放置数日);

转入 50%酒精 5 min,并用水冲洗 10 min;

放入 40℃ 0.5%铁苏木素染液中 10 min,取出于流水中冲洗 30 min;

2%铁明矾液中褪色 10 min~20 min,褪色过程中应注意观察,具体时间以在显微镜下能看清结构而定;

在流水中冲洗 10 min 以上;

顺序在 50%、70%、85%、95%酒精、纯酒精 I、纯酒精 II 中脱水 2 min~5 min;

以加拿大树胶封片,于显微镜下观察。

4 结果判定

实验动物寄生的鞭毛虫和纤毛虫种类很多,除本标准描述的种类外,其他种类的鞭毛虫或纤毛虫都可检查到,凡在显微镜下检查到鞭毛虫或纤毛虫的滋养体或包囊都判为阳性。

鼠三毛滴虫(*Tritrichomonas muris*)滋养体呈梨形,有一明显的波动膜呈波浪状运动,虫体以转圈形式运动。大小为(16~26) μm \times (10~14) μm ,染色后可见虫体前端有一椭圆形核,从核前端的毛基体发出前鞭毛为 3 根,后鞭毛即波动膜的游离缘向后行,末端伸出虫体尾端成为游离。鞭毛有一贯穿虫体全长并从尾部伸出体外的轴柱。

鼠贾第鞭毛虫(*Giardia muris*)滋养体正面观为梨形,侧面观为半月形,虫体运动形式为左右晃动。大小为(7~13) μm \times (5~10) μm ,左右对称,腹面有一大吸盘,两个核位于虫体前部。有 4 对鞭毛,按部位分为前、后鞭毛、腹鞭毛、尾鞭毛,各 1 对。包囊为椭圆形,大小为 15 μm \times 7 μm ,囊壁厚,未成熟包囊有 2 个核,成熟后有 4 个核,位于包囊内一端。

鼠六丝鞭毛虫(*Spiroucleus muris*)滋养体呈细长形,以直线形式运动,且速度较快。(7~9) μm \times (2~3) μm ,较其他类鞭毛虫小,左右对称,两个核位于虫体前端,核间的毛基体发出 6 根前鞭毛和 2 根后鞭毛,2 根轴柱贯穿虫体,但未伸出体外。

纤毛虫(*Balantidium spp.*)滋养体虫体透明无色或呈淡绿色,外形近似椭圆形,周身纤毛不停振动,且虫体不停转动。虫体前端有胞口,呈短小豆状,后端有一小而不明显的胞肛,有一大一小两个核,大的为肾形,小的为圆粒形,多位于大核凹陷处,虫体中部、后部各有一伸缩泡。体表有许多斜形排列的纤毛。包囊壁稍厚、淡绿色,囊内结构同滋养体,唯食物泡少;新形成的包囊可见囊内虫体仍能活动。

5 结果报告

根据结果判定,作出报告。
