

兽医寄生虫学
实验室技术手册

英国 农业、渔业和粮食部 编

刘钟灵 译

华中农学院

一九八二年十二月

前 言

本书为英国韦布里吉中心兽医实验室寄生虫学系40多年来通过对动物寄生虫病的调查研究，收集整理的一部资料，英国农业、渔业和粮食部作为第18号技术公报编辑成册，于1977年出版。该书内容较为丰富，操作方法详细具体，可供各地从事家畜寄生虫病研究与防治工作同志的参考。鉴于国内这方面的书籍不多，故将其译出，因译者水平有限，不妥与错误之处在所难免，敬希读者批评指正。

本书译后承秦礼让教授校阅，邓继柱同志协助绘图，谨此致谢。

译 者

1982、8、

目 录

蠕 虫 学

引言

1. 粪便虫卵计数..... (1)
 - 1.A 粪便的收集
 - 1.B 直接涂片检查
 - 1.C 斯陶尔虫卵计数法(改良的)
 - 1.D 斯陶尔氏虫卵计数法(第二次改良法)
 - 1.E 漂浮法
 - 1.F 改良的麦克马斯特法
 - 1.G 改进的改良麦克马斯特法
 - 1.H 专门改良的麦克马斯特法
 - 1.I 从粪便中发现线虫卵与幼虫的漂浮技术
 - 1.J 盐水漂浮法
 - 1.K 计算粪便中吸虫卵的硫酸锌溶液漂浮法
 - 1.L 计算每克粪便中胎生网尾线虫幼虫数的灵敏方法
 - 1.M 应用饱和硫酸镁溶液漂浮猪粪中的后圆线虫卵
 - 1.N 计算粪便中蠕虫卵和原虫卵囊的多种程序
2. 贝尔曼装置..... (7)
 - 2.A 用贝尔曼装置检查牛粪中的肺虫幼虫
 - 2.B 绵羊或山羊粪中肺虫幼虫的检查
3. 粪便培养..... (8)
 - 3.A 培养的准备
 - 3.B 从绵羊和山羊的粪粒培养中大量发现蛇形毛圆线虫、捻转血矛线虫和克氏古柏线虫感染性幼虫的可取方法
 - 3.C 从培养中收集幼虫
 - 3.D 从培养中收集幼虫的另一种方法
 - 3.E 从300毫升广口瓶中的培养物内收集幼虫
4. 第三期幼虫的检查与鉴定..... (9)
 - 4.A 一些常见的绵羊胃肠道线虫第三期幼虫的鉴定检索
 - 4.B 一些常见的牛胃肠道线虫第三期幼虫的鉴定检索
 - 4.C 猪粪培养中第三期线虫幼虫的鉴定特征
 - 4.D 常见的马胃肠道线虫第三期幼虫的鉴定检索

- 4.E 绵羊胃肠道线虫感染性幼虫的量度
- 4.F 牛胃肠道线虫感染性幼虫的量度
5. 各种实验性培养方法 (14)
- 5.A 胎生网尾线虫第三期幼虫的培养
- 5.B 丝状网尾线虫第三期幼虫的培养
- 5.C 细颈线虫幼虫的培养方法
- 5.D 巴西日圆线虫感染性幼虫的培养方法
- 5.E 红色猪圆线虫感染性幼虫的培养方法
- 5.F 鸡异刺线虫感染期的培养
- 5.G 猪蛔虫感染性虫卵的培养技术
- 5.H 线虫幼虫的清洁
- 5.I 用蔗糖梯级法从碎粪中分离线虫卵和幼虫
- 5.J 用蔗糖清洁线虫幼虫
- 5.K 线虫幼虫计数
- 5.L 线虫幼虫的保存
- 5.M 保存线虫幼虫的另一方法
- 5.N 肝片形吸虫各期幼虫及其中间宿主的实验室培养
- (1) 培养器皿的准备与藻类生产
- (2) 截口土蜗的饲养和繁殖
- (3) 从吸虫卵培养毛蚴
- (4) 用毛蚴感染螺蛳
- (5) 从感染螺蛳中回收囊蚴
- (6) 囊蚴的处理
6. 牧场感染的测定 (20)
- 6.A 牧草中线虫幼虫的计算
- 6.B 从牧草上迅速发现幼虫的技术
- 6.C 从牧草上收集囊蚴的方法
- 6.D 计算截口土蜗群体密度的方法
7. 尸体剖检虫体计数 (22)
- 7.A 消化道线虫计数方法
- 7.B 消化道童虫的收集
- 7.C 虫体分类计数
- 7.D 绵羊和牛的胃肠道线虫的鉴定
- 7.E 绵羊的线虫
- 7.F 牛的线虫
- 7.G 胃肠道线虫童虫寄生期的鉴别
- 7.H 感染有网尾线虫和后面线虫之肺脏的检查
- 7.I 寄生有肺线虫的肺组织检查
- 7.J 绵羊肺线虫的鉴定
- 7.K 检查肝脏中的肝片形吸虫

- 7.L 使旋毛虫从包囊中逸出的肌肉消化法
8. 蠕虫的保存与染色 (36)
- 8.A 线虫的保存
- 8.B 绦虫的保存
- 8.C 吸虫的保存
- 8.D 蠕虫的检查
- 8.E 绦虫、吸虫和线虫的一般染色法
- 8.F 线虫的棉兰乳酚装片技术
- 8.G 另外两种有效的染色法：歌立希氏苏木素染色法和郝伦氏三色剂染色法
- 8.H 尾蚴的固定和染色

原 虫 学

9. 球虫病 (38)
- 9.A 前言
10. 禽类球虫病 (39)
- 10.A 鸡
- (1) 盲肠球虫病
- (2) 小肠球虫病
- 10.B 火鸡
- 10.C 鹅
- 10.D 雉
- 10.E 鸭
11. 哺乳动物球虫病 (42)
- 11.A 猪
- 11.B 牛
- 11.C 绵羊和山羊
- 11.D 兔
- 11.E 犬
12. 诊断 (48)
13. 球虫卵囊的计数 (49)
14. 卵囊的形态学观察 (50)
15. 试验方法 (50)
- 15.A 一日内产出卵囊总数 (卵囊产出总数)
- 15.B 实验室培养
16. 组织学 (52)
- 16.A 歌利希氏苏木素和伊红染色法 (一种优良的染色法)
- 16.B 雷果氏铁苏木素染色法
- 16.C 海姆斯与莫尼伯氏法

16.D	P.A.S.—A.O法	
17.	组织滴虫病	(54)
17.A	切片中组织滴虫的染色	
17.B	实验感染	
17.C	火鸡组织滴虫的试管培养	
18.	毛滴虫病	(55)
18.A	胎儿毛滴虫的描述	
18.B	胎儿毛滴虫的培养	
18.C	染色的永久标本	
18.D	公牛毛滴虫病的诊断	
18.E	母牛毛滴虫病的诊断	
19.	巴贝斯焦虫病	(60)
19.A	血液涂片染色方法	
20.	寄送标本到中心兽医实验室检查	(61)
20.A	球虫病	
20.B	巴贝斯焦虫病	
20.C	毛滴虫病	
21.	原虫在液态氮中的冷冻保存	(61)
21.A	艾美耳球虫孢子囊	
21.B	胎儿毛滴虫	
21.C	牛血液中的分离巴贝斯焦虫	

昆 虫 学

引言

22.	材料的收集、保存和处理	(64)
22.A	昆虫的采集	
22.B	螨的采集	
22.C	蝉的采集	
22.D	材料的保存和制备	
22.E	作鉴定与参考用的蝉之保存	
22.F	昆虫学解剖技术	
23.	鉴定和诊断	(68)
23.A	昆虫的鉴定	
	(1) 虱	
	(2) 蚤	
	(3) 蝇	
23.B	蜘蛛纲的诊断与鉴定	
	(1) 寄生性螨	

- (2) 饲料螨
- (3) 家禽的螨类
- (4) 蜱
- 24. 试验研究用的昆虫与蜘蛛类的培养 (87)
 - (1) 蝇
 - (2) 叫蝇
 - (3) 家蝇
 - (4) 小家蝇
 - (5) 厩蝇
 - (6) 黄热病蚊 (埃及伊蚊)
 - (7) 瘤蝇 (牛皮蝇和纹皮蝇)
 - (8) 蚤
 - (9) 虱
 - (10) 螨
 - (11) 家禽红螨 (鸡刺皮螨)
 - (12) 家禽的北方鸡螨 (林禽刺螨)
 - (13) 篦子婢
 - (i) 发育史
 - (ii) 实验室饲养
- 25. 实验性技术 (83)
 - 25.A 接触杀虫剂的生物学估测
 - (i) 植入试验
 - (ii) 试管试验
 - (iii) 耐受性与敏感性试验
 - 25.B 内吸杀虫剂的生物学估测

蠕 虫 学

引 言

在蠕虫学研究中采用很多技术，这就是从混入或含有各期虫体的组织、粪便、牧草和培养基中分离出寄生虫的成虫、虫卵或幼虫。为达到这一目的，必须利用寄生虫和与其分离的材料之间的特点，这些特点就是颗粒的大小、特殊比重、活虫体的活性以及它们对消化酶和腐蚀化学剂的抵抗力。

1. 粪便虫卵计数

在粪便中发现虫卵或幼虫，即证明该动物感染有寄生虫。粪便中虫卵浓度定量法的改进是一个重要进展，但仅从虫卵计数就认为可以准确地推论寄生虫的多少并不恰当。

粪便虫卵计数在试验和调查研究中，仍然有很大价值，这样一系列计数或在已知病史的动物中计数比较，能提供有关虫荷及宿主对寄生虫反应的大量资料。粪便虫卵计数对蠕虫病的诊断也有一些帮助，当粪中有大量虫卵或幼虫时，即说明动物患有蠕虫病，但粪中没有或很少并不一定意味着动物没有得蠕虫病。

(a) 影响虫卵计数准确性的因素：

(1) 每天粪中虫卵数出现有规律的变动，在试验中必须给以足够程度的考虑(例如，作计数比较的粪样，必须在每一天同一时间采集)。

(2) 由于虫卵在粪中不是均匀地分布，因而出现采样的误差，这种原因误差影响不大。

(3) 粪便排出的量可影响每单位重量的虫卵数，曾提出多种纠正粪便的湿度和质地的弥补方法，但都没有多大帮助，如要获得粪便精确的排卵数，必须将24小时内排出的粪收集并称重，充分混匀，然后进行虫卵计数。

(b) 影响粪便虫卵计数的重要因素：

(1) 宿主的抵抗力能抑制或完全阻止虫体排卵。

(2) 其它现象影响成熟雌虫数和虫卵排出数之间的关系。

(3) 寄生虫的童虫不能排卵，而许多虫种的童虫有高度致病力。

(4) 宿主的抵抗力能导致显症前期(prepatent period)显著地延长，虫体的侵袭能引起疾病，但症状不明显。

(5) 线虫的很多种虫卵不易区别，因此，常常把致病力和产卵力差别很大的混合虫种的全部虫卵数，当作是一个种的虫卵数。

曾经介绍过多种一般认为不易区别粪中各种虫卵比例的测定方法，这些建议是让虫卵发育，待到第三期幼虫时进行鉴定，这将在以后章节中介绍。

1. A 粪便的收集

供寄生虫学检查的粪便必须从直肠采取，除非亲眼看到动物排粪，才可从地面收集样

品。用手从大家畜的直肠取粪并不困难，较小的家畜如羔羊，可以湿润手指插入直肠，轻轻旋转按摩，使肛门括约肌松弛。送往实验室盛粪样的容器为30毫升的广口有螺丝盖的玻璃瓶或塑料瓶，粪样尽可能装满，以便排出空气，这样可减少虫卵的发育和孵化。粪样必须从感染畜群的数头动物采取。一些是从感染严重的动物，而少数是从感染较轻的动物，以便观察到对比数字。从野外收集的粪样，动物曾在上面践踏过，无诊断价值，但当直肠采不到粪时，这些粪还是可以检查的，应选择刚排出的粪便，而且要收集几份样品。

1. B 直接涂片检查

将薄的粪便涂片在普通显微镜的低倍17毫米物镜下，检查蠕虫卵和幼虫的存在是可能的。然而，这种方法有一些缺点：(a)粪中虫卵与幼虫密度很高时才有效；(b)由于虫卵或幼虫被粪渣遮盖，鉴定它们常有困难以及(c)不能得到虫卵或幼虫的定量结果。

1. c 斯陶尔(Stoll)虫卵计数法(改良的)

这是一种简单的易于识别虫卵和幼虫并能测定它们在粪中密度的稀释方法。因为实际检查的粪便仅1/100克，故本法不适于每克少于200个虫卵粪样的检查。

方 法

1. 在盛有42毫升水的120毫升玻璃瓶中，放进玻璃珠约45个。
2. 取3克粪便放入玻璃瓶中。
3. 瓶口加塞，摇动，直到瓶中粪便全部破碎为止。
4. 将此混合液通过一个孔径为0.15毫米的网筛*，滤过，收集到一个大杯内，筛上留下的粪渣倒掉。
5. 充分搅动粪便滤液，并用刻度吸管吸取0.15毫升液体。
6. 将此测定虫卵数量的0.15毫升粪液由吸管吐至载玻片上，用22×22毫米的盖玻片盖好。虽然0.15毫升粪液在载玻片上形成一大片，而在推荐所使用大小的盖玻片下观察实在太多，但对少量粪液自盖玻片边缘溢出并无多大关系，必须把盖玻片下面及不在盖玻片下面的粪液中所有虫卵计数，这可以用一块较大的盖玻片，以增加在显微镜下寻找的面积，或者用玻璃铅笔或石蜡块在载玻片上划二道平行的横线，这两条线可防止粪液向二侧流出，而将其限制在盖玻片下面的范围内。
7. 在低倍镜下检查0.15毫升粪液中的全部虫卵并计数。
8. 将获得的数字（即0.15毫升粪液中虫卵总数）乘以100，即为原始粪样每克粪中的虫卵数。

1. D 斯陶尔氏虫卵计数法(第二次改良法)

本法是去掉粪液中较细的颗粒及颜色，以便较容易、迅速而准确地检查虫卵。此法靠离心、去掉上清液、沉淀物在清水中再混悬来完成。

方 法

如上面1. c所述的方法，从第5步开始，用以下另加的步骤：

- 5A. 取离心管，将充分搅动的滤液倒入，几乎充满至管口，以1500转/分钟的速度离心2分钟，倾去上清液。
- 5B. 搅动管底沉淀物，直至使其松散并形成均匀一致的液体为止，加清水于管内至原来水平高度。

* 本书所提到的全部网筛直径均为200毫米。

5 C.用拇指按住管口，翻转5—6次，充分混合管内容物，再以刻度吸管吸取0.15毫升混悬液计数。

1.E 漂浮法

借助各种漂浮液将虫卵从粪渣中分离出来计数，是一种比较满意的计数方法。常用的有四种漂浮液，但没有一种漂浮液对所有虫卵计数都适用，表1即说明某种漂浮液对一种或某一类虫子适用或不适用。

表1 漂 浮 法

寄 生 虫	在粪便中的发育阶段	半饱和盐水漂浮法	饱和盐水漂浮法	饱和硫酸锌漂浮法	饱和硫酸镁漂浮法
毛圆科线虫	卵	+	+	0	
圆线科线虫					
粪圆属线虫	含胚的卵	+	+	0	
鞭 虫					
斯氏线虫	卵	0	+		
毛细线虫					
网尾线虫和小型肺线虫	第一期幼虫	+	+	0	
吸 虫	卵	0	0	+	
莫尼茨绦虫	卵		+		
蛔 虫	卵	0	+	0	
马 蛻 虫	卵	0	+	0	
后圆线虫	含胚的卵	0	0	0	+

+: 推荐使用的漂浮法

0: 不适用的漂浮法

1.F 改良的麦克马斯特 (McMaster) 法

许多虫卵及幼虫能漂浮于某种盐溶液中，而大多数粪渣则不能。此法采用一个特殊的计算室，其内充满混悬有粪的盐溶液，虫卵直接漂浮于计算室上方，而粪渣则沉于室的底部。用显微镜调节焦距寻找虫卵，粪渣大体上在焦距之外，十分模糊，而虫卵则清楚地与粪渣区别开来。

计算板具有两个室，每个室的深度为1.5毫米，下面的一块玻板构成计算室的底部，上面的玻板其下面刻划有1平方厘米大小的两个方格，每个方形划线的容积为0.15毫升，使用时将待检的粪混悬液注入每一个室内，直到完全充满为止，然后在低倍镜下检查每个划线方格内的虫卵，并将所有虫卵计数。

方 法

- 1.在盛有45毫升清水的120毫升玻璃瓶中放入玻璃珠约45个。
- 2.称粪便3克放入此瓶中并加塞。
- 3.充分摇动玻璃瓶，直到所有粪块完全碎开为止。
- 4.加入45毫升饱和盐水，再摇动玻璃瓶，使瓶中内容物充分混合。

5. 将瓶中混合物用一孔径为0.15毫米的网筛过滤, 滤入一大杯内, 筛上面的粪渣弃去。

6. 充分搅动滤过的粪液, 用巴斯德吸管吸出足够的粪液, 小心地注入计算室内, 再充分搅动杯中粪液, 吸取第二份样品, 注入另一计算室内。

7. 计算两个平方厘米方格内的所有虫卵数。

3克粪便稀释成90毫升混悬液(每30毫升混悬液1克粪), 则所检查的混悬液容积为0.3毫升(计算室的每一平方厘米内为0.15毫升), 以两个方块内的全部虫卵数乘以100, 即为每克粪便虫卵数。

1. G 改进的改良麦克马斯特法

如果利用离心机, 可检查饱和盐水中的混悬物, 许多种虫卵能在饱和盐水中漂浮, 但不能如1. F所用方法在半饱和盐水中漂浮, 应用离心机也能去掉粪便中微细颗粒与色素, 便于观察。

方 法

1. 在盛有42毫升清水的120毫升玻璃瓶中放入玻璃珠约45个。

2. 称3克粪便放入玻璃瓶中。

3. 摇动玻璃瓶, 直到其中所有粪块碎裂为止。

4. 将瓶中混合液通过一个孔径为0.15毫米的网筛, 滤入一大杯内, 弃去筛上的粪渣。

5. 搅动滤过液并将其倒入一离心管到离管口1厘米处, 以1500转/分钟的速度离心2分钟, 弃去上清液。

6. 搅动离心管直到沉渣松散, 在管底形成均匀一致的软泥, 然后加饱盐水到管内, 其量与前述5相同。

7. 用拇指按住管口, 倒转5—6次, 使管内容物充分混合, 立即用巴斯德吸管吸取足量的混悬液, 小心注入一个计算室, 再次使管内容物混悬后, 吸取第二个样品, 注入另一计算室内,

8. 计算两个平方厘米内的全部虫卵数, 将两室方格内全部虫卵数乘以50, 即为每克粪便中的虫卵数(3克粪稀释成45毫升混悬液, 而检查的为0.3毫升)。

1. H 专门改良的麦克马斯特法

在1. G法中实际检查了0.02克粪便, 所以此法不适于含虫卵数很低的粪样。改良法用于牛粪, 检查0.1克粪便, 这样每观察到一个虫卵乘以10, 即为每克粪便虫卵数。

本法必须采用麦克马斯特标准计算板, 称粪便4.5克, 加清水40.5毫升, 振荡, 随后操作程序与1. G法完全相同, 但计算板上的两个计算室内所找到的全部虫卵应计数, 总数乘以10, 即为每克粪便虫卵数。

1. I 从粪便中发现线虫卵与幼虫的漂浮技术

由于蠕虫卵的比重比大多数粪渣要低, 根据这一事实, 使虫卵从粪便中分出或集中起来, 这样就能计数出每克粪中的少量虫卵。

1. J 盐水漂浮法

如果没有供应用的克雷顿—兰(Clayton Lane)离心机 and 18毫升装的克雷顿—兰试管, 任何其它装有一个“摇摆”的头的离心机也可应用, 但不太方便。在这种情况下, 离心管口必须磨平, 这可在金刚石上加充足的水, 作圆周运动来磨, 并建议采用略大于管口直径的圆形盖玻片。

方 法

如1. G法前面的6个步骤。

7. 用拇指按住管口倒转5—6次, 充分摇动是必要的, 但应避免发生小气泡, 否则会妨碍漂浮。

8. 试管置于离心机中, 用吸管或塑料洗瓶加少许饱和盐水, 直到在试管口形成半圆形凸出面为止。

9. 将一标准厚的19×19毫米的方盖玻片置于试管口上, 小心勿让玻片下形成气泡。以1000转/分钟的速度离心2分钟, 快于此速度可在玻片下形成气泡。

10. 将附着有虫卵的盖玻片从管口小心地呈垂直方向取下。

11. 将盖玻片置于载玻片上, 在低倍镜下进行虫卵计数。如果此离心管盛有滤液15毫升, 其中所含虫卵是来自1克粪便。如果找完漂浮的全部虫卵, 所得的虫卵总数即为每克粪便虫卵数。然而在漂浮过程中, 大约要损失1/6的虫卵, 因此必须应用6/5的修正因子。

如果X为试管容积, Y为所见虫卵数, 则每克粪中虫卵数应为:

$$Y \times \frac{15}{X} \times \frac{6}{5}$$

如果采用标准的18毫升克雷顿—兰试管, 则可自动地作这种修正, 所得全部虫卵数即为每克粪便虫卵数。

1. K 计算粪便中吸虫卵的硫酸锌溶液漂浮法

肝吸虫卵在普通饱和盐水中不漂浮, 但能很好地在饱和硫酸锌溶液中漂浮, 而毛圆科与圆线科的线虫卵在普通饱和盐水中能漂浮, 却不能可靠地漂浮于饱和硫酸锌溶液中。

方 法

除以饱和硫酸锌溶液代替普通饱和盐水溶液外, 本法与1. J相同, 此法的一个缺点是卵壳在饱和硫酸锌溶液中易于塌陷(如图版Ⅲ No. 1所示)这样就破坏了虫卵的形态, 但留下清晰的黄绿色卵壳和卵的大致大小, 是容易识别而且计数也是准确的。

卵壳塌陷导致一些卵再下沉, 所以当漂浮操作过程开始后, 中间不要间断很重要。

塌陷的虫卵可以恢复, 如果希望在检查它们时仍为正常状态, 在第10个步骤以后, 介绍以下改进方法:

11. 以小心的动作将盖玻片从试管口垂直取下, 用吸管或塑料洗瓶以不超过10毫升的清水将虫卵洗入锥形离心管中。

12. 离心管以1500转/分钟的速度离心2分钟, 用吸管吸去上清液。

13. 管内剩下总量约0.1毫升的沉淀物, 用吸管将其转移到载玻片上, 试管再用0.1毫升水冲洗, 并将冲洗液也转移到载玻片上。

14. 载玻片上的液体用38×22毫米盖玻片盖上, 按常用的方法作虫卵计数。

1. L 计算每克粪便中胎生网尾线虫*Dictyocaulus viviparus*幼虫数的灵敏方法

在牛的可疑寄生性气管炎病例, 特别是成年牛, 在其粪中出现很少数量的幼虫是可能的, 因此, 可采用一种漂浮法, 从10克粪中计算被发现的所有幼虫。

1. 称10克粪便放入一个盛有45个玻璃珠的120毫升玻璃瓶中。

2. 瓶中加水约70毫升。

3. 瓶口加塞后振荡, 直到所有粪块破碎为止。

4. 将孔径为0.15毫米的网筛放在一个杯子上, 把瓶中粪液均匀地倒在网筛上, 用较多的水冲洗玻璃瓶, 洗瓶水也倒在筛上。

5. 现在用一个相当快速的喷咀, 把水喷开约7厘米直径以冲洗筛上材料, 直到杯内滤液

达600—700毫升为止，弃去筛上粪渣。

6. 滤液转入到一品脱（译者注：1品脱=700毫升）装的容器内，让其至少沉淀3小时。

7. 上清液虹吸掉，留下总量约60毫升的沉淀物。

8. 沉淀物分装于4个克雷顿—兰试管中，以1500转/分钟的速度离心2分钟。

9. 管中上清液倾去，沉淀物轻轻震荡使完全松散。

10. 试管内加饱和盐水到距管口1厘米处，并每管用拇指按住管口翻转数次，直到沉淀物混匀悬浮为止，摇动时必须避免产生气泡。

11. 将试管置于离心机中，用吸管或塑料洗瓶加少许饱和盐水，直到凸出管口边缘为止，一块厚的19×19毫米的方盖玻片盖于每个管口上，当心勿让其下形成气泡。

12. 以1000转/分钟的速度离心2分钟。

13. 以小心的动作从管口垂直地取下一块盖玻片，用吸管或塑料洗瓶以2—3毫升清水将附于盖玻片上的幼虫洗入一锥形离心管中，反复对其余三块盖玻片同样操作，把幼虫洗入同一锥形管中。

14. 锥形管以1500转/分钟的速度离心2分钟，小心虹吸上清液并弃去。

15. 管中全量应为0.15毫升的沉淀物，以吸管转到一块载玻片上，试管再以0.1毫升水冲洗，此冲洗液亦转到载玻片上。

16. 载玻片上的液体加盖38×22毫米盖玻片，在显微镜17毫米物镜下，系统地检查载玻片上的幼虫数，所见的每一幼虫（图版Ⅱ，No. 11）以每克粪中含0.1条计算。

由于操作过程中损失约40%的幼虫，故必须认识到这种计数只是参考，而不是真实的数值。

1. M 应用饱和硫酸镁溶液漂浮猪粪中后圆线虫卵

后圆线虫卵在饱和硫酸镁溶液中漂浮比在其它溶液中可靠，猪粪中肺线虫卵的检查计数程序如1. J所述方法，但本法是以饱和硫酸镁溶液代替饱和普通盐溶液。

1. N 计算粪便中蠕虫卵和原虫卵囊的多种程序

在检查粪样时，常常希望找出不止一种寄生虫，为此目的，叙述一种以上的技术是必要的。下面所介绍的四部分不同方法，其开头的粪便制备相同。应用饱和普通盐溶液的麦克马斯特计数法、饱和普通盐溶液漂浮法、饱和硫酸锌溶液的麦克马斯特计数法和饱和硫酸锌溶液漂浮法均同样可用3克粪便进行检查。根据检查需要，可以采用任何一部份，或几部份结合起来做。例如，如果检查牛粪样品，需要了解胃肠道线虫和肝吸虫的感染情况，可采用第一部份，如果需要，也可采用第二和第四部份，如果检查猪粪样品中的线虫卵和原虫包囊，则可采用第一部份和第三部份。

器 械

克雷顿—兰试管应有刻度，其上标明15和15.5毫升。

方法：准备

1. 称3克粪便，放入一个盛有约45个玻璃珠和42毫升水的120毫升容量瓶中。

2. 瓶口加塞并振荡，直到其中粪块完全破碎为止。

3. 将孔径为0.15毫米的网筛放在一个大杯上，把瓶中内容物均匀地倒在网筛上。

4. 将杯中收集的滤液样品倒入克雷顿—兰试管到15.5毫升刻度处，以1500转/分钟的速度离心2分钟。

5. 倾去上清液，微微搅动沉淀物，使其充分松散。

第一部份 用饱和普通盐溶液的改良麦克马斯特计数法。

6. 以饱和普通盐溶液倒入试管到15.5毫升刻度处,用拇指按住管口,倒转数次,直到沉淀物均匀混悬为止,振荡会形成气泡,必须避免。用巴斯德吸管取约0.5毫升溶液,注入麦克马斯特玻板的一个计算室内,则试管内此时剩下15毫升液体。

7. 在低倍镜(17毫米物镜×6倍目镜)下系统地寻找计算室平方厘米方格内的虫卵或卵囊并计数。数到的每一个虫卵或卵囊,相当于每克粪中的100个。在1厘米方格下检查的容量为0.15毫升,它为45毫升含3克粪便的1/300。

第二部份 饱和普通盐溶液漂浮法

8. 用拇指按住盛有15毫升饱和盐水粪便混悬液的试管口,倒转数次,小心防止形成气泡。

9. 试管置于离心机中,加满饱和盐水,直到管顶呈现凸出的半圆形,一块厚的19×19毫米方盖玻片置于试管口,避免在盖玻片下形成气泡,试管以1000转/分钟的速度离心2分钟。

10. 以仔细的动作将盖玻片从试管上垂直取下,置于载玻片上,试管与其中内容物仍保留。

11. 将载玻片置于显微镜的17毫米物镜下,系统地寻找虫卵或卵囊并计数,每个虫卵或卵囊代表每克粪便1个,在本规程的这一部份操作中,偶尔发现吸虫卵,当发现时,将所见到的虫卵数加入第四部份计算。

第三部份 应用饱和硫酸锌溶液的改良麦克马斯特法

12. 由第一部份及第二部份保留下来的试管,以1500转/分钟的速度离心2分钟,倾去上清液,管中沉淀物充分搅散如前所述。

13. 以饱和硫酸锌溶液加入试管,到15毫升刻度处,以后操作同第6和7步。如果有必要作第四部份操作,则试管与其内容物仍保留。

第四部份 应用饱和硫酸锌溶液漂浮法

12a. 如果第三部份省略,则第一和第二部份保留的试管以1500转/分钟的速度离心2分钟,倾去上清液,并换以饱和硫酸锌溶液如第12步操作。

14. 以硫酸锌溶液漂浮如第8、第9步,进一步加溶液,使高出管口,形成凸面。

吸虫卵及小袋纤毛虫 *Balantidium* 的包囊在硫酸锌溶液中均要塌陷,因此应在清水中检查,在水中虫卵与包囊很快恢复到正常形状。

15. 在离心之后,仔细地将盖玻片从试管上垂直取下,附于其上的虫卵或卵囊以吸管或洗瓶用少于10毫升的清水将其洗入一锥形离心管中。

16. 锥形管以1500转/分钟的速度离心2分钟,小心将上清液虹吸去,离心管中留下的沉淀物总量不超过0.1毫升,用吸管将其转于载玻片上,再以0.1毫升清水冲洗离心管,冲洗液亦转于载玻片上。

17. 以38×22毫米盖玻片盖住载玻片上的液体,在显微镜的17毫米物镜下,系统地检查所有吸虫卵或卵囊并计数。每个虫卵或卵囊代表每克粪便一个。

应当说明,对在漂浮过程中损失的虫卵或包囊,不必作校正,这种计算只是有名无实,而不是真实数值。

以上介绍的技术所见虫卵与幼虫见图版 I—II。

2. 贝尔曼 (Baermann) 装置

这种器械装置是用于从粪便、粪便培养或组织中收集活动的幼虫。它包括一个由漏斗架支

持的大漏斗，漏斗下面接一个短橡皮管，用一个弹簧夹夹紧橡皮管，漏斗内放一个预先打湿的孔径为0.15毫米的网筛，漏斗内盛水，使水面高出网筛约1吋，为了避免在筛下留有大量气泡，加水时采用以下办法：当网筛用水浸湿时，筛孔会由一层连续和紧闭的水膜覆盖，这可用吸水纸在筛的边缘吸或猛吹筛孔来解决。现在漏斗中的筛子，放到水下面，这样空气通过干燥处逸出，最后水即进入，装置即可备用。将含有幼虫的材料放于筛中，由于幼虫本身自由活动而离开粪便，通过筛子最后集中于漏斗管，打开弹簧夹，幼虫即通过橡皮管而被收集。

2. A 用贝尔曼装置检查牛粪中的肺虫幼虫

这是一个简单的检查牛粪中肺虫幼虫的方法，当粪中幼虫数很少时也可应用，但本法不能得到定量结果。

1. 大约50克新鲜牛粪涂布于直径为17厘米的滤纸上。
2. 如上述方法安装贝尔曼装置。
3. 滤纸放于筛中，有粪的面向下，过夜。
4. 次日晨从下面放出大约10毫升液体到锥形试管中。
5. 此管以1500转/分钟的速度离心2分钟，将上清液虹吸掉，取沉淀物置于载玻片上镜检。

2. B 绵羊或山羊粪中肺虫幼虫的检查

如果粪便是新鲜的，可采用贝尔曼氏法由绵羊或山羊粪中分离幼虫，如果粪便不新鲜，则应采用1. J漂浮法。

1. 10厘米口径的漏斗其下接一个约6厘米长的橡皮管，夹以弹簧夹，漏斗置于合适的漏斗架上。
2. 漏斗中装水，并以8×8厘米的方块细棉布平放于漏斗的水中。
3. 称5克粪便，放于细棉布中，用布角包盖住粪便。
4. 置漏斗过夜，从橡皮管中取几毫升液体，于凹玻片上直接观察，或放入锥形离心管中更好，以1500/分钟的速度离心2分钟，仔细虹吸掉上清液，留下沉淀物全量约0.1毫升，用吸管吸于载玻片上，离心管再用0.1毫升水冲洗，冲洗液亦吸取放于同一载玻片上，在38×22毫米盖玻片上系统检查。

每数1条幼虫，即说明每克粪中含0.2条幼虫，此法能收集85—95%存在的网尾线虫幼虫。

常见的绵羊肺虫种类的第一期幼虫形态，见图版IV。

3. 粪 便 培 养

因为上面提到的寄生虫的繁殖力和致病性不同，如果知道存在的这些虫种中占优势的种，则会提高粪便虫卵计数的价值。由于胃肠道多种线虫的虫卵大小及外形相似，以致鉴别它们极为困难。然而，它们的第三期幼虫足能区别，有经验的工作者能区分到不同的属，甚至可区分到不同的种。

3. A 培养准备

粪便培养为蠕虫卵的孵化提供适合环境，以便它们发育到感染期。不同的虫卵要求不同的条件，但上述的一般培养方法对绵羊粪中的毛圆科线虫卵和马粪中的圆线科线虫卵及许多其

它种线虫卵是适合的。

以方便与否为根据，用一个大研棒和乳钵或刮刀将粪便研细，为了获得良好的培养，粪便必须湿润与细碎，但不能太潮湿。太干的粪必须用水打湿，如果粪太湿，可加灭菌的粪、泥碳末或动物碳，使达到合适的稠度。将这种混合物放入玻璃培养碟或缸内，置于27℃恒温箱中7天，直到所有幼虫发育到感染期，如果没有适当的恒温箱，可放在室温中培养10—20天。

当粪便培养供大规模使用制备时，可用一机械混合器将粪打碎并混入泥碳末，当粪弄得够细时，若太干就加水，如果太湿就加动物碳，直至达到合适的浓度为止。大量的粪便最好培养在5.0厘米深的塘瓷盘中，盘中粪便深度为4.0厘米，用玻板盖住此盘，然后按所要需的温度培养。特别在大量培养时，霉菌会造成麻烦，但每日搅动粪便可抑制其生长，这对培养物较下层的通气也有帮助，如果霉菌生长得相当多，在搅动时应戴上防护面罩。

3. B 从绵羊和山羊粪粒培养中大量发现蛇形毛圆线虫、捻转血矛线虫和克氏古柏线虫感染性幼虫的可取方法

如上所述，粪便在放进5厘米深的塘瓷盘之前，先用自来水浸泡1—2小时，然后将此盘置27℃恒温箱中培养7天，为防止霉菌生长，每日应混合与翻动粪球，可用一手持气体喷雾器将自来水以细雾喷至粪球上，以抑制霉菌生长。盖培养盘的玻板下面在全部培养期间，均应看到有冷凝的水珠。

在恒温箱内培养之后，将培养盘放在室温光线下数小时，这些虫种的活动幼虫即移行，离开粪便，爬到培养盘的边缘壁上，当幼虫大体上全部从粪中移行出来后，去掉粪球，从盘的旁边和盖盘的玻板下面小心洗下幼虫，按5. H所述的方法清洁之。

3. C 从培养中收集幼虫

幼虫最好用贝尔曼装置收集，此装置的准备已如前述。将培养物从恒温箱中取出，把粪便从培养皿中倒在贝尔曼装置的筛子上，尽量使其均匀布满于整个筛面，培养皿边和皿的本身用少量水冲洗，把从粪中爬至皿边或壁上的任何幼虫洗下，然后将水倒入贝尔曼装置，静置24小时或过夜，此时幼虫即从粪中逸出，并通过筛子进入漏斗底部，由该处将幼虫放出检查。

3. D 从培养中收集幼虫的另一种方法

为了特殊诊断目的，不需要贝尔曼装置而能将幼虫从小量培养中取出。将粪倒在一块湿的细棉布上，此细棉布覆盖在一个600毫升容器或其它适当的器皿上，如前述方法冲洗培养皿边缘和其本身，冲洗液应倒在棉布上，由此而滤入品脱容器中。将棉布四角扎在一起，作成袋子而将粪样包于其中，然后此品脱容器盛水，让棉布袋浮于其中，次日将棉布袋和粪样在品脱容器上挤压后拿走，液体在品脱容器内静置24小时，这时幼虫沉于底部，然后虹吸掉上清液，幼虫即留在剩下的沉淀物中。

3. E 从300毫升广口瓶中的培养物内收集幼虫

将水加于培养物中，直至漫到瓶口，一个标准培养皿反转盖于瓶口，并将整个瓶倒转过来，致使广口瓶倒立于培养皿中，约加15毫升水于培养皿内，让瓶和皿静置过夜，第二天培养皿中的液体内含有很多幼虫，用吸管将此液体转入锥形离心管中离心检查。

第三期幼虫的检查与鉴定

放一小滴幼虫悬浮液于玻片上，再加一滴革兰氏碘溶液（碘1克，碘化钾2克，蒸馏水300毫升，）仔细混合此二滴溶液，然后轻轻加盖玻片，碘杀死幼虫，将标本置显微镜下观

察，依次检查幼虫，按检索所列特征来识别，应鉴别 100 条幼虫，见图 1 (a)、(b) (c)、图 2。

4.A 一些常见的绵羊胃肠道线虫第三期幼虫的鉴定检索

- | | |
|--|---|
| 1. 食道呈杆形
食道不呈杆形 | 自由生活线虫
2 |
| 2. 无鞘；食道近体长的一半
有鞘；食道不及体长的 1/4 | 类圆属 <i>Strongyloides</i>
3 |
| 3. 尾鞘短或呈中等长度
尾鞘很长 | 4
7 |
| 4. 在口腔和食道间可见两个折光体或一条明亮的横带
折光体与横带缺如 | 古柏属 <i>Cooperia</i>
5 |
| 5. 纤细的幼虫；尾鞘中等长度，至末端渐尖且常扭结
尾鞘很短；呈圆锥形 | 血矛属 <i>Haemonchus</i>
6 |
| 6. 幼虫中等大小；或者为大型幼虫而具明显的圆形尾
小的幼虫；尾部生有 1 个或 2 个结节；或呈不明显的圆尾 | 奥斯特属 <i>Ostertagia</i>
毛圆属 <i>Trichostrongylus</i> |

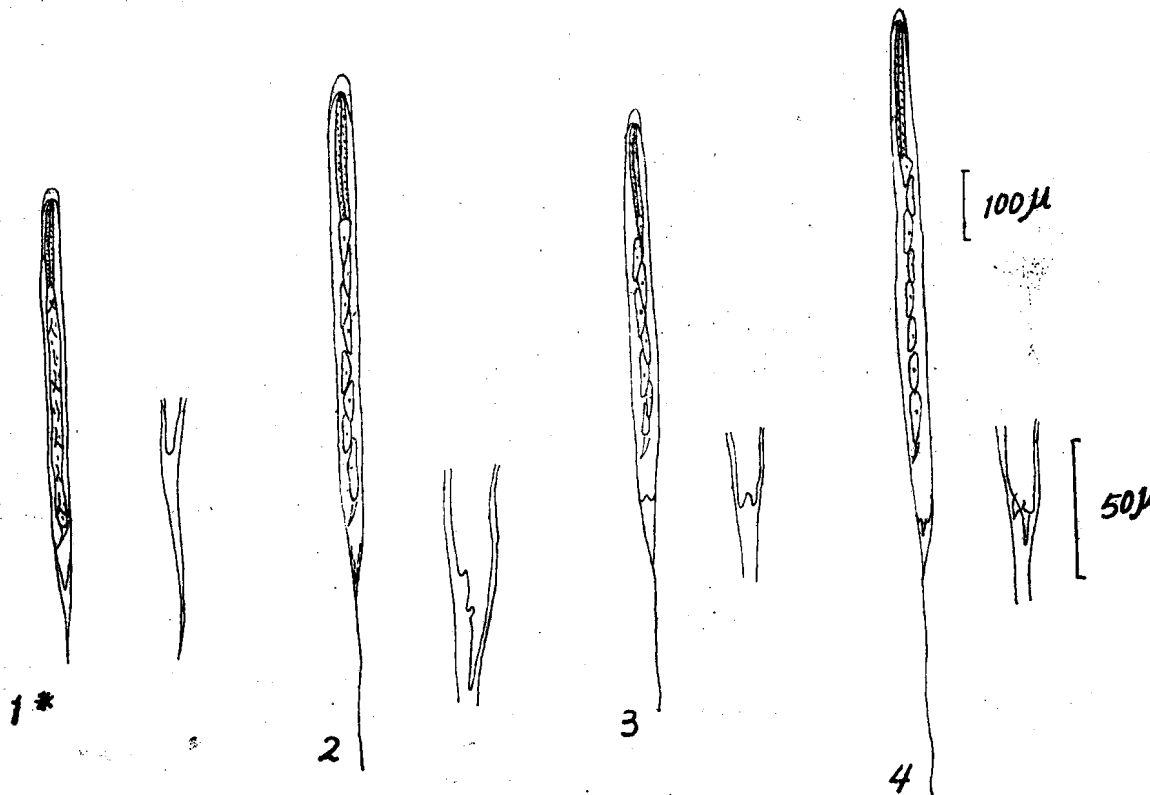


图 1 (a) 绵羊寄生线虫的感染性幼虫

1. 捻转血矛线虫 2. *Nematodirus battus* 3. 尖刺细颈线虫 4. 钝刺细颈线虫

• 绵羊和牛均寄生