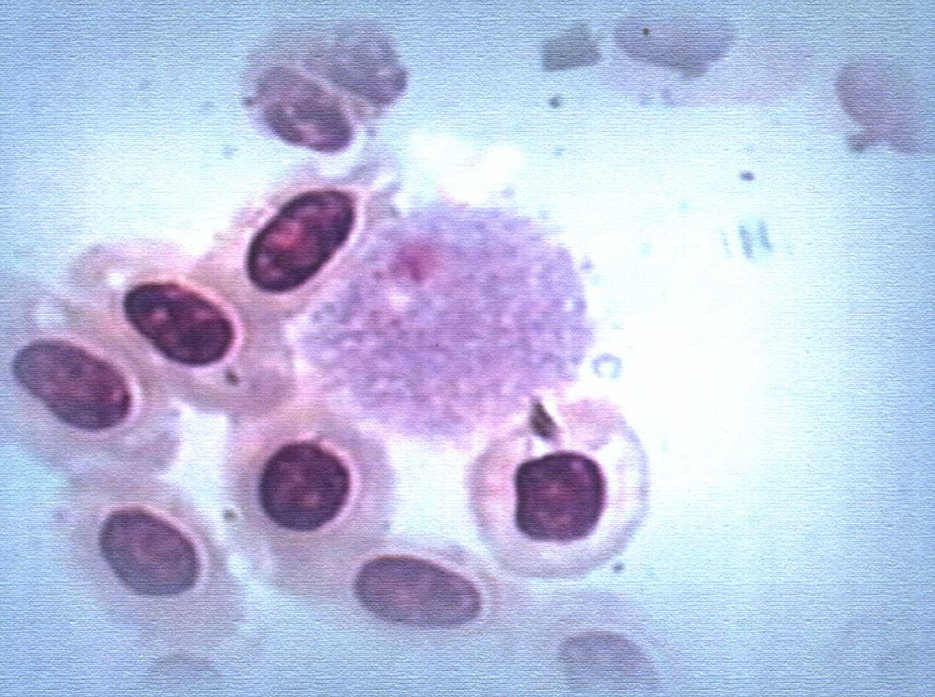


● 面向 21 世纪课程教材配套实验教程 ●

动物寄生虫病学 实验教程

秦建华 李国清 主编



中国农业大学出版社
ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

面向 21 世纪课程教材配套实验教程

动物寄生虫病学 实验教程

秦建华 李国清 主编

中国农业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

动物寄生虫病学实验教程/秦建华,李国清主编. —北京:中国农业大学出版社,2005.10
ISBN 7-81066-947-8

(面向 21 世纪课程教材配套实验教程)

I. 动… II. ①秦… ②李… III. 动物疾病:寄生虫病-实验-教材 IV. S855.9-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 101447 号

书 名 动物寄生虫病学实验教程

作 者 秦建华 李国清 主编

策划编辑 潘晓丽

责任编辑 董夫才 周 伟

封面设计 郑 川

责任校对 王晓凤 陈 莹

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100094

电 话 发行部 010-62731190,2620

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

E-mail caup@public.bta.net.cn

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2005 年 10 月第 1 版 2005 年 10 月第 1 次印刷

规 格 787×1 092 16 开本 11.25 印张 305 千字

印 数 1~4 000

定 价 15.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

主 编 秦建华 李国清

副主编 杨光友 杨晓野 李培英 刘学英 顾有方 朱兴全 刘 毅

主 审 张 勤

参编单位及人员

内蒙古农业大学 杨晓野

四川农业大学 杨光友

安徽农业大学 李培英

山西农业大学 高文伟 刘学英

河北农业大学 包永占 秦建华 赵月兰

华南农业大学 翁亚彪 林瑞庆 肖淑敏 周荣琼 张瑞强

李国清 朱兴全

安徽科技学院 顾有方

湖南农业大学 刘 毅

河南科技学院 王承民

河北省畜牧兽医研究所 张 勤

编写说明

动物寄生虫病学实验实习是“动物寄生虫病学”的主要内容,是理论联系实际的重要环节,因此教师应按着教学大纲的要求和本地动物寄生虫病的特点确定动物寄生虫病学实验项目,制定计划。由于实验内容较多,为了保证教学效果,在使用动物寄生虫病学实验教程时,对有关全国性主要动物寄生虫病的实验内容必须保证完成;对地方性动物寄生虫病的内容可结合当地具体情况加以选择。凡属于动物主要寄生虫及中间宿主、传播者及其病理标本观察项目,可在课堂实验中解决,实验内容也可合并或分次进行。凡属于动物寄生虫病的主要诊断方法和防治技术的实验内容,可在安排 1~2 周的动物寄生虫学教学实习中解决。

动物寄生虫病学实验实习的教学方法,必须立足于调动学生的学习积极性,使学生在教师指导下独立完成实习任务。学生除认真操作外还要做好动物寄生虫病学实验记录,结束后教师应对本次动物寄生虫病学实验进行简单小结。作业(实习报告)根据内容不同可在课内完成。也可在课后完成,最后由教师填写评语、评定成绩。

在动物寄生虫病诊断方法实习中,以采自可疑病畜的待检材料最为理想。在寄生虫病的防治技术实习中,一般以使用附近发生寄生虫病的养殖场的动物群最为合适。在现场实习既能使学生学习防治寄生虫病的用药方法,又能训练学生实际组织实施防治措施的能力。

本教材在编写过程中,得到了国内预防兽医学领域中许多专家、学者的鼓励和大力支持,老一辈兽医寄生虫病学专家的热情指导与帮助对保证本书的如期完成发挥了重要作用,在此表示衷心感谢!

在编写过程中,由于时间仓促,错误和遗漏之处恳请广大读者批评、指正。

编 者

2005 年 06 月

目 录

实验一	动物蠕虫学粪便检查技术(一).....	(1)
实验二	动物蠕虫学粪便检查技术(二).....	(10)
实验三	吸虫的基本构造及家禽吸虫的形态学观察.....	(16)
实验四	家畜吸虫病常见病原形态学观察.....	(23)
实验五	绦虫蚴及其成虫病原形态学观察.....	(27)
实验六	动物绦虫病常见病原形态学观察.....	(37)
实验七	线虫一般构造和蛔虫病病原形态学观察.....	(44)
实验八	动物线虫病常见病原形态学观察(一).....	(51)
实验九	动物线虫病常见病原形态学观察(二).....	(63)
实验十	动物棘头虫病病原形态学观察.....	(69)
实验十一	蠕虫学完全剖检术及蠕虫标本采集与制作	(71)
实验十二	蜱、螨形态观察和螨病诊断技术	(81)
实验十三	动物蝇蛆病、虱病和蚤病病原形态学观察	(88)
实验十四	媒介昆虫形态学鉴定技术.....	(93)
实验十五	动物外寄生虫病药浴防治.....	(103)
实验十六	动物血液原虫病病原检查技术.....	(107)
实验十七	动物球虫病实验室诊断技术.....	(110)
实验十八	弓形虫病、住肉孢子虫病和结肠小袋纤毛虫病病原检查技术	(120)
实验十九	弓形虫病血清学诊断技术.....	(129)
实验二十	日本血吸虫病实验室诊断技术.....	(138)
实验二十一	旋毛虫病肉品检验技术.....	(145)
实验二十二	动物寄生虫病 Dot-ELISA 法诊断技术	(151)
实验二十三	动物寄生虫病 PCR 诊断技术	(155)
实验二十四	动物驱虫试验及其效果评定.....	(163)
兽医寄生虫学综合实习大纲		(169)
参考文献.....		(170)

实验一 动物蠕虫学粪便检查技术(一)

一、实验目的及要求

- (1)掌握动物蠕虫学常见的实验室粪便虫卵检查技术。
- (2)在光学显微镜下区分虫卵和异物。
- (3)认识吸虫卵、绦虫卵、线虫卵等蠕虫虫卵,掌握其一般特征。

二、实验器材

载玻片,盖玻片,镊子,平皿,烧杯,塑料杯或纸杯,漏斗,漏斗架,胶帽吸管,离心管,试管,玻璃棒,粪筛,纱布,平底管(青霉素小瓶),玻璃珠,三角小烧瓶,100 mL 球状烧瓶,火柴棍,特制铁丝圈,虫卵计数板,普通离心机,光学显微镜等。

甘油,饱和食盐水,0.1 mol/L(或4%)NaOH,家畜新鲜粪便等。

三、实验方法、步骤和操作要领(直接涂片法、漂浮法、沉淀法、虫卵计数法)

(一)直接涂片法(examination of direct smears)

在清洁的载玻片上滴1~2滴水或1滴甘油与水的等量混合液(加甘油的好处是能使标本清晰,并防止过快蒸发变干),其上加少量粪便,用火柴棍仔细混匀。再用镊子去掉大的草棍和渣子等,之后加盖玻片,置光学显微镜下观察虫卵或幼虫(图1-1)。

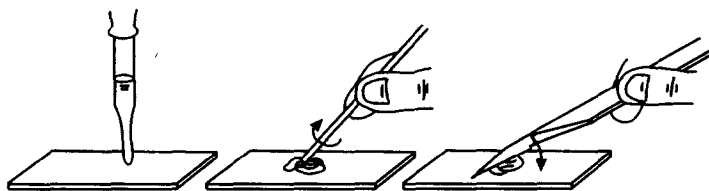


图1-1 直接涂片法示意图

另一方法是直接涂片法的改良法即回旋法。取2~3 g粪样加清水2~3倍,充分混匀成悬液。后用玻璃棒搅拌0.5~1 min,使之成回旋运动,在搅拌过程中迅速提起玻璃棒,将棒端附着的液体放于载片上涂开,加上盖片在镜下检查。检查时多取几滴悬液。该方法的原理是由于回旋搅动,可使玻璃棒端悬液小滴中附有较多量的寄生虫卵或幼虫。

(二)漂浮法(method involving flotation)

其原理是采用密度高于虫卵的漂浮液,使粪便中的虫卵与粪便渣子分开而浮于液体表面,然后进行检查。漂浮液通常多采用饱和盐水,其方法简便、经济、易行。饱和盐水漂浮法对大多数线虫卵、绦虫卵及某些原虫卵囊均有效,但对吸虫卵、后圆线虫卵和棘头虫卵效果较差。

饱和盐水漂浮方法操作步骤:取新鲜粪便 2 g 放在平皿或烧杯中,用镊子或玻璃棒压碎,加入 10 倍量的饱和盐水,搅拌混合,用粪筛或纱布过滤到平底管中,使管内粪汁平于管口并稍隆起为好,但不要溢出。静置 30 min 左右,用盖片蘸取后,放于载片上,镜下观察;或用载片蘸取液面后翻转,加盖片后镜检;也可用特制的铁丝圈进行蘸取检查(图 1-2)。

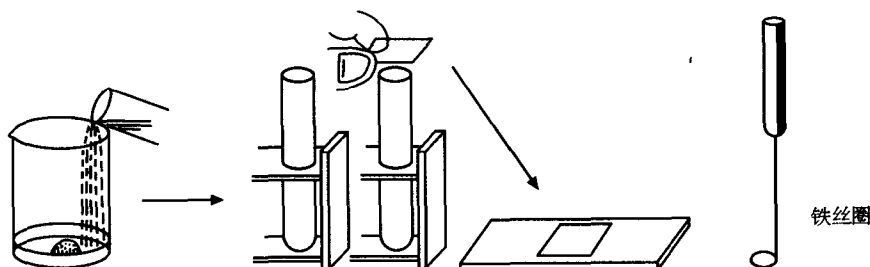


图 1-2 漂浮法示意图

除上述漂浮方法外,还有一种简单的漂浮技术。它可以检查含卵量少的粪便(每克粪便少于 50 个虫卵)。具体步骤如下:即取 3 g 粪便放于一塑料杯或烧杯内,加进 50 mL 漂浮液后,用玻璃棒搅匀,通过粪筛或双层纱布过滤到另一个杯中漂浮 10 min,然后用一试管插在滤液的中央底部,并迅速提起。把附在上面的液滴滴落在载片上,加上盖片镜检。

(三) 沉淀法(sedimentation technique)

其原理是利用虫卵密度比水大的特点,让虫卵在重力的作用下,自然沉于容器底部,然后进行检查。沉淀法可分为离心沉淀法和自然沉淀法两种。

1. 离心沉淀法 通常采用普通离心机进行离心,使虫卵加速集中沉淀在离心管底,然后镜检沉淀物。方法是取 5 g 被检粪便,置于平皿或烧杯中,加 5 倍量的清水,搅拌均匀。经粪筛和漏斗过滤到离心管中,置离心机上离心 2~3 min(电动离心机转速约为 500 r/min),然后倾去管内上层液体,再加清水搅匀,再离心。这样反复进行 2 或 3 次,直至上清液清亮为止,最后倾去大部分上清液,留约为沉淀物 1/2 的溶液量,用胶帽吸管吹吸均匀后,吸取适量粪汁(2 滴左右)置载玻片上,加盖玻片镜检。

2. 自然沉淀法 操作方法与离心沉淀法类似,只不过是将离心沉淀改为自然沉淀过程。沉淀容器可用大的试管。每次沉淀时间约为 30 min。自然沉淀法缺点是所需时间较长,优点是不需要离心机,因而在基层乡下操作较为方便。

(四) 虫卵计数法(egg counting method)

虫卵计数法主要用于了解畜禽感染寄生虫的强度及判断驱虫的效果。方法有多种,这里介绍两种常用的计数方法。

1. 麦克马斯特氏法(McMaster's Method)

计数板的构造:计数板是由两片载玻片组成,其中一片较另一片窄一些(便于加液)。在较窄的玻片上有 1 cm 见方的刻度区两个,每个正方形刻度区中又平分为 5 个长方格。另有厚度为 1.5 mm 的几个玻璃条垫于两个载玻片之间,以树脂胶黏合。这样就形成了两个计数室,每个计数室的容积为 0.15 mL(图 1-3)。

计数方法:取 2 g 粪便混匀,放入装有玻璃珠的小瓶内,加入饱和盐水 58 mL 充分振荡混

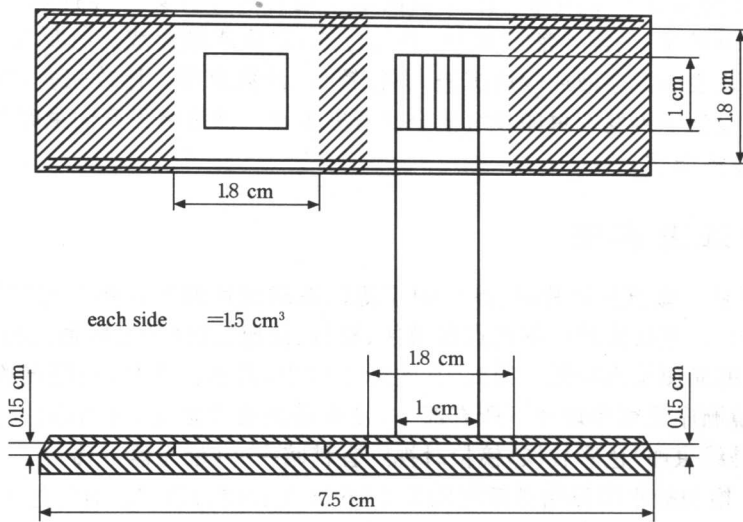


图 1-3 麦克马斯特氏计数板示意图

合,通过细的粪筛过滤,后将滤液边摇晃边用吸管吸出少量滴入计数室内,置于显微镜台上,静置几分钟后,用低倍镜将两个计数室内见到的虫卵全部数完,取平均值,再乘以 200,即为每克粪便中的虫卵数(EPG)。

2. 斯陶尔氏法(Stoll's Method) 用小的特制球状烧瓶,在瓶的下颈部有两个刻度,下面为 56 mL,上面为 60 mL(没有这种球状烧瓶,可用大的试管或小三角烧杯代替,但须事先标好上述两个刻度)。

计数时,先加入 0.1 mol/L(或 4%)NaOH 溶液至 56 mL 处,再徐徐加入捣碎的粪便,使液面达 60 mL 处为止(大约加进 4 g 粪便)。然后加入 10 多个玻璃小球,充分振荡,使呈细致均匀的粪悬液(也可以过滤)。后用吸管吸取 0.15 mL 置载玻片上,盖以不小于 22 mm×40 mm 的盖玻片镜检计数(没有大盖片,可用若干张小盖片代替;或将 0.15 mL 粪液滴于 2 或 3 张载片上,分别进行计数后,再加起来即可)。所见虫卵总数乘以 100,即为每克粪便中的虫卵数(图 1-4)。

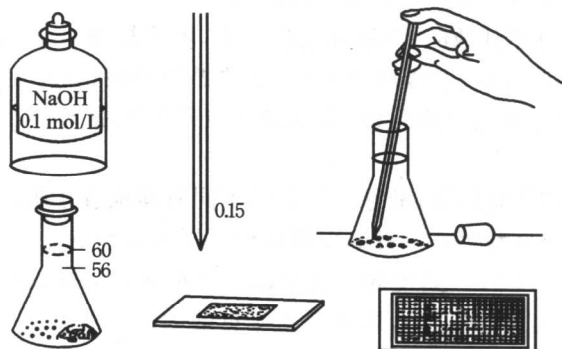


图 1-4 斯陶尔氏法示意图

除上述方法之外,也可以用漂浮法或沉淀法来进行虫卵计数。即称取一定量粪便(1~5 g),加入适量(10 倍量)的漂浮液或水后,进行过滤,尔后或漂浮或进行反复水洗沉淀,最后用盖片或载片蘸取表面漂浮液或吸取沉渣,进行镜检,计数虫卵。计数完一片后,再检查第二片、第三片……,直到不再发现虫卵或沉渣全部看完为止。然后将见到的虫卵总数除以粪便克数,即为每克粪便虫卵数。

四、实验注意事项

1. 直接涂片法 做直接涂片时,涂片的厚薄以在载玻片的下面垫上有字的纸时,纸上的字迹隐约可见为宜。直接涂片法的优点是简便、易行、快速、适合于虫卵量大的粪便检查;缺点是对虫卵含量低的粪便检出率低。因此,在实际工作中,需多检几片,以提高检出率。检查虫卵时,先用低倍镜顺序观察盖玻片下所有部分,发现疑似虫卵物时,再用高倍镜仔细观察。因一般虫卵(特别是线虫卵)色彩较淡,镜检时视野宜稍暗一些(聚光器下移)。

2. 漂浮法 饱和盐水漂浮法漂浮时间为 30 min 左右较为适宜。时间过短(少于 10 min)漂浮不完全;时间过长(大于 1 h)易造成虫卵变形、破裂,难以识别。另外,漂浮液必须饱和,盐类的饱和溶液须保存在不低于 13℃ 的情况下,才能保持较高的密度;否则效果难以保证。

除饱和盐水漂浮液以外,其他一些漂浮液也可用于一些特殊虫卵的检查。如饱和硫酸锌溶液(饱和度为 1 000 mL 水中溶解 920 g 硫酸锌)漂浮力强,检查猪肺丝虫卵效果较好;饱和硫酸镁溶液(饱和度为 1 000 mL 水中溶解 440 g 硫酸镁)多用于结肠小袋纤毛虫包囊的检查;饱和蔗糖溶液(饱和度为 1 000 mL 水中溶解 1 280 g 蔗糖)性温和,可适于多种虫卵和卵囊的漂浮。

漂浮法检查多例粪便时,如用铁丝圈蘸取漂浮液面,则检查完一例,再蘸取另一例时,需先在酒精灯上烧过铁丝圈后再用之,避免相互污染,影响结果的准确性。另外,如用载玻片或盖玻片蘸取虫卵,则使用的载玻片或盖玻片一定要干净无油腻,否则难以蘸取。

3. 沉淀法 沉淀法对各种蠕虫卵及幼虫均可查到,特别适用于检查密度大的虫卵(如吸虫卵等)。注意此法粪量少,一次粪检最好多看几片,以提高检出率。

另外,也可将离心沉淀法和漂浮法结合起来应用。如可先用漂浮法将虫卵和比虫卵轻的物质漂起来,再用离心沉淀法将虫卵沉下去;或者选用沉淀法使虫卵及比虫卵重的物质沉下去,再用漂浮法使虫卵浮起来,以获得更高的检出率。

4. 虫卵计数法 做虫卵计数时,所取粪便应干净,不能掺杂砂土、草根等;操作过程中,粪便必须彻底粉碎,混合均匀;用吸管吸取粪液时,必须摇匀粪液,在一定深度吸取;采用麦克马斯特氏法计数时,必须调好显微镜焦距(计数室刻度线条可被看到);计数虫卵时,不能有遗漏和重复。

为了取得准确的虫卵计数结果,最好在每日的不同时间检查 3 次,并连续检查 3 d,然后取其平均值。这样就可以减少寄生虫在每昼夜间排卵不平衡的影响。

将每克粪便虫卵数乘以 24 h 粪便的总重量(g),即是每日所排虫卵的总数,再将此总数除以已知成虫每日排卵数(可查书得到),即可得出雌虫的大约寄生数量。如寄生虫是雌雄异体的,则将上述雌虫数再乘以 2,便可得出雌雄成虫寄生总数。

由于粪中虫卵的数目与宿主机体状况、寄生虫的成熟程度、雌虫数目及排卵周期、粪便性状(干湿)、是否经过驱虫及其他多种因素有关,所以虫卵计数只能是对寄生虫感染程度的一个

大致推断。

五、实验报告

(1)记录粪检虫卵结果,并对各种方法做简要叙述和概括总结。

(2)绘吸虫卵、绦虫卵、线虫卵各一个,并注明虫卵各部构造名称。

附:参考资料

(一)饱和盐水的配制

把食盐加入沸水锅内,直到食盐不再溶解出现沉淀为止(即1 000 mL沸水中加入约400 g食盐),精制盐配制的饱和盐水一般不必过滤,待冷却后即可使用(冷却后的溶液有食盐结晶析出,即为饱和);粗制盐配制的饱和液可用滤纸、纱布或棉花过滤后备用。

(二)各类蠕虫卵特征描述

1. 吸虫卵(trematode eggs) 吸虫卵多数呈卵圆形或椭圆形,为黄色、黄褐色或灰褐色。卵壳由数层卵膜组成,比较厚而坚实。大部分吸虫卵的一端有卵盖,卵盖和卵壳之间有一条不明显的缝(新鲜虫卵在高倍镜下时可看见)。当毛蚴发育成熟时,则顶盖而出;有的吸虫卵无卵盖,毛蚴则破壳而出。有的吸虫卵卵壳表面光滑,也有的有各种突出物(如结节、小刺、丝等)。新排出的吸虫卵内,有的含有卵黄细胞所包围的胚细胞,有的则含有成形的毛蚴(图1-5)。

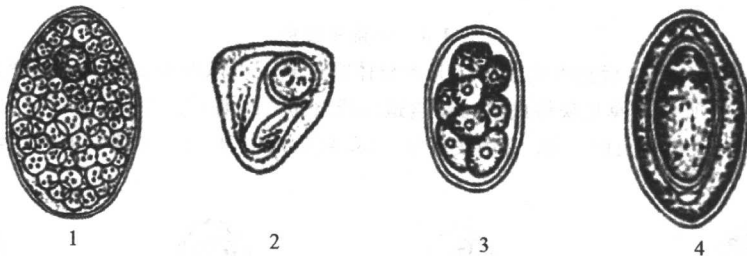


图1-5 各类蠕虫卵

1. 吸虫卵 2. 绦虫卵(有梨形器) 3. 线虫卵 4. 棘头虫卵

2. 绦虫卵(cestode eggs) 圆叶目绦虫卵与假叶目绦虫卵构造不同。圆叶目绦虫卵中央有一椭圆形具3对胚钩的六钩蚴。六钩蚴被包在一层紧贴着的膜里,该膜称为内胚膜;还有一层膜位于内胚膜之外,叫外胚膜。内外胚膜之间呈分离状态,中间含有或多或少的液体,并常含有颗粒状内含物。有的绦虫卵的内层胚膜上形成突起,被称之为梨形器(灯泡样结构)。各种绦虫卵卵壳的厚度和结构有所不同。绦虫卵大多数无色或灰色,少数呈黄色、黄褐色。假叶目绦虫卵则非常近似于吸虫卵。

3. 线虫卵(nematode eggs) 一般的线虫卵有4层膜(光学显微镜下只能看见2层)所组成的卵壳,壳内为卵细胞。但有的线虫卵随粪排至外界时,已经处于分裂前期;有的甚至已含有幼虫。各种线虫卵的大小和形状不同,常见椭圆形、卵形或近于圆形。卵壳的表面也各有所不同,有的完全光滑,有的有结节,有的有小凹陷等。各种线虫卵的色泽也不尽相同,从无色到黑褐色。不同线虫卵卵壳的薄厚不同,蛔虫卵卵壳最厚;其他多数卵壳较薄。

4. 棘头虫卵(thorny-head worm eggs) 虫卵多为椭圆或长椭圆形。卵的中央有一长椭圆形的胚胎,在胚胎的一端具有 3 对胚钩。胚胎被 3 层卵膜包着;最里面的一层常是最柔软的;中间一层常较厚,大多在两端有显著的压迹;最外一层的构造往往变化较大,有的薄而平,有的厚并呈现凹凸不平的蜂窝状构造。

(三)牛、马、羊、猪、犬、猫、兔、家禽寄生虫虫卵图(图 1-6 至图 1-13)

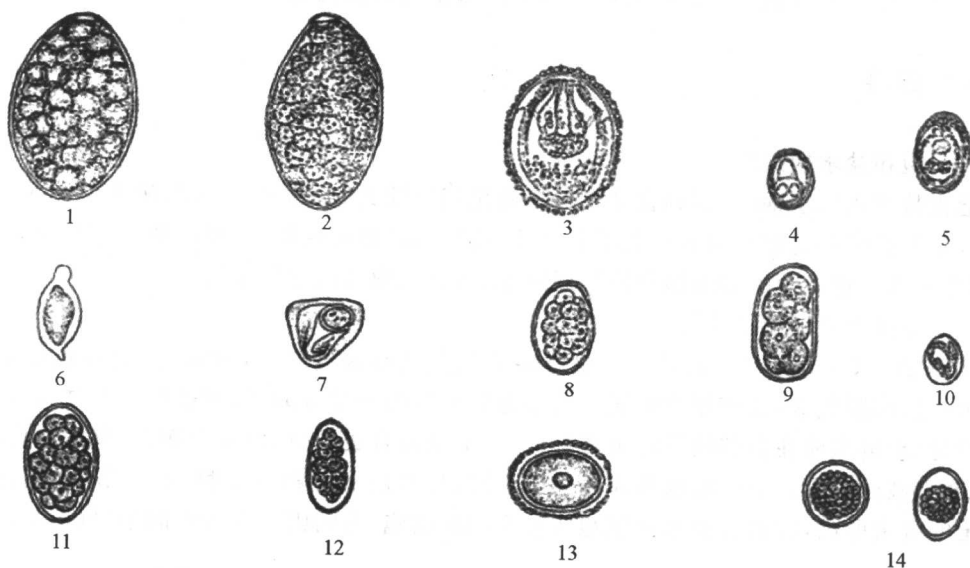


图 1-6 牛寄生虫卵

1. 大片吸虫卵 2. 前后盘吸虫卵 3. 日本分体吸虫卵 4. 双腔吸虫卵 5. 胰阔盘吸虫卵
6. 东毕吸虫卵 7. 莫尼茨绦虫卵 8. 食道口线虫卵 9. 仰口线虫卵 10. 吸吮线虫卵
11. 指形长刺线虫卵 12. 古柏线虫卵 13. 桡新蛔虫卵 14. 牛艾美耳球虫卵囊

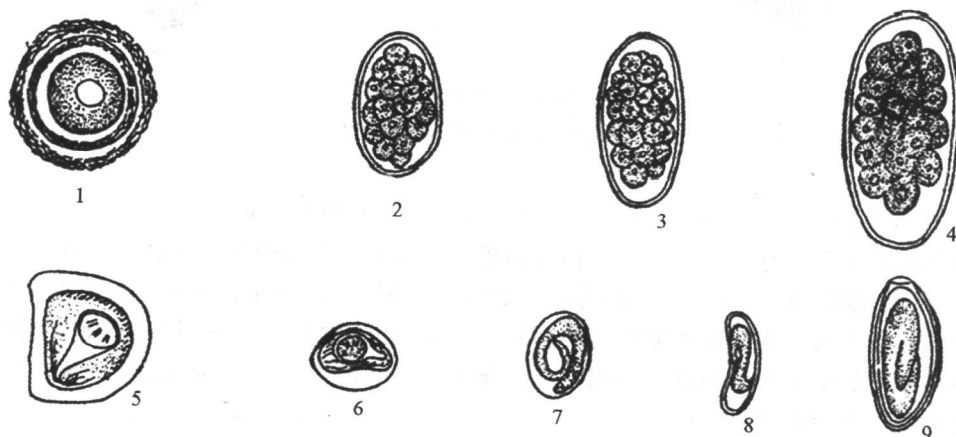


图 1-7 马寄生虫卵

1. 马副蛔虫卵 2. 圆线虫卵 3. 毛细虫卵 4. 细颈三齿线虫卵 5. 裸头绦虫卵
6. 侏儒副裸头绦虫卵 7. 韦氏类圆线虫卵 8. 柔线虫卵 9. 马尖尾线虫卵

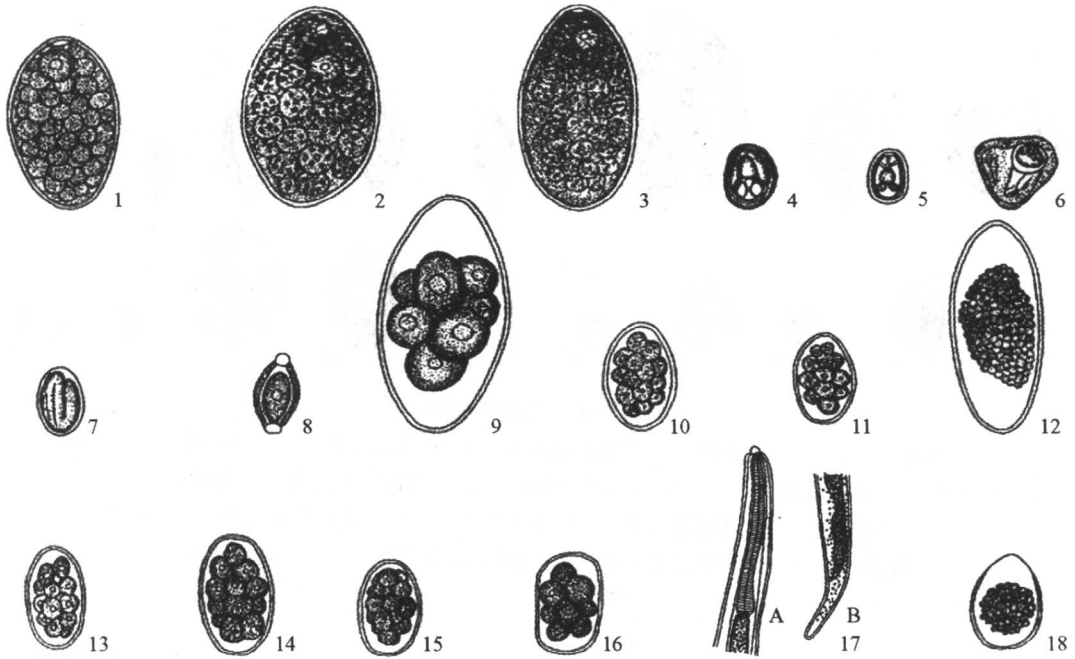


图 1-8 羊寄生虫卵

1. 肝片吸虫卵 2. 大片吸虫卵 3. 前后盘吸虫卵 4. 双腔吸虫卵 5. 胰阔盘吸虫卵 6. 莫尼茨绦虫卵 7. 乳突类圆线虫卵 8. 毛尾线虫卵 9. 细颈线虫卵 10. 奥斯特线虫卵 11. 捻转血矛线虫卵 12. 马歇尔线虫卵 13. 毛圆线虫卵 14. 夏伯特线虫卵 15. 食道口线虫卵 16. 仰口线虫卵 17. 丝状网尾线虫幼虫: A. 前端 B. 尾端 18. 小型艾美耳球虫卵囊

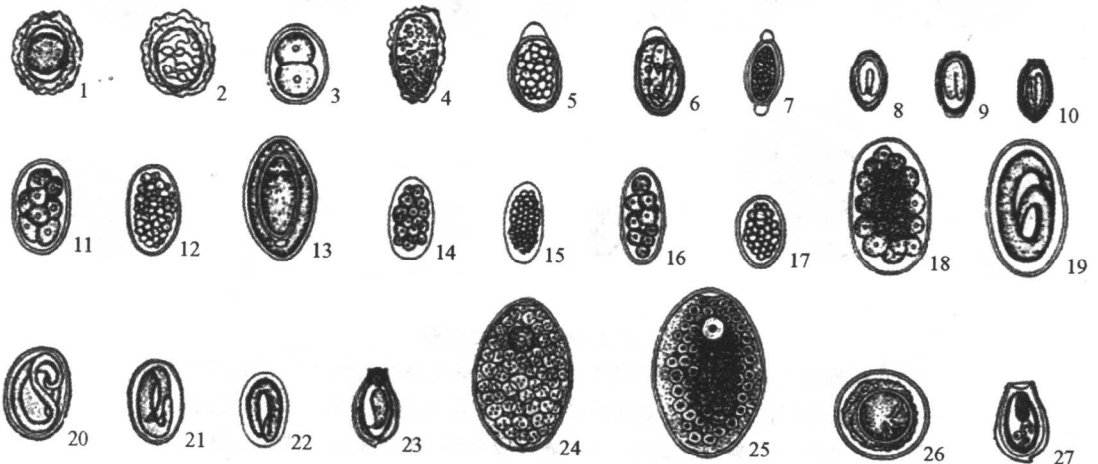


图 1-9 猪寄生虫卵

1. 蛔虫卵 2. 猪蛔虫卵表面观 3. 猪蛔虫卵蛋白膜脱落分裂至两个细胞阶段 4. 猪蛔虫未受精卵 5. 刚棘颚口线虫卵(新鲜虫卵) 6. 刚棘颚口线虫卵(已发育虫卵) 7. 猪鞭虫卵 8. 圆形蛔状线虫卵(未成熟虫卵) 9. 圆形蛔状线虫卵(成熟虫卵) 10. 六翼泡首线虫卵 11. 结节虫卵(新鲜虫卵) 12. 结节虫卵(已发育虫卵) 13. 猪棘头虫卵 14. 球首线虫卵(新鲜虫卵) 15. 球首线虫卵(已发育虫卵) 16. 红色猪圆线虫卵 17. 鲍杰线虫卵 18. 猪肾虫卵(新鲜虫卵) 19. 猪肾虫卵(含幼虫的卵) 20. 野猪后圆线虫卵 21. 复阴后圆线虫卵 22. 兰氏类圆线虫卵 23. 华支睾吸虫卵 24. 姜片吸虫卵 25. 肝片吸虫卵 26. 长膜壳绦虫卵 27. 截形微口吸虫卵

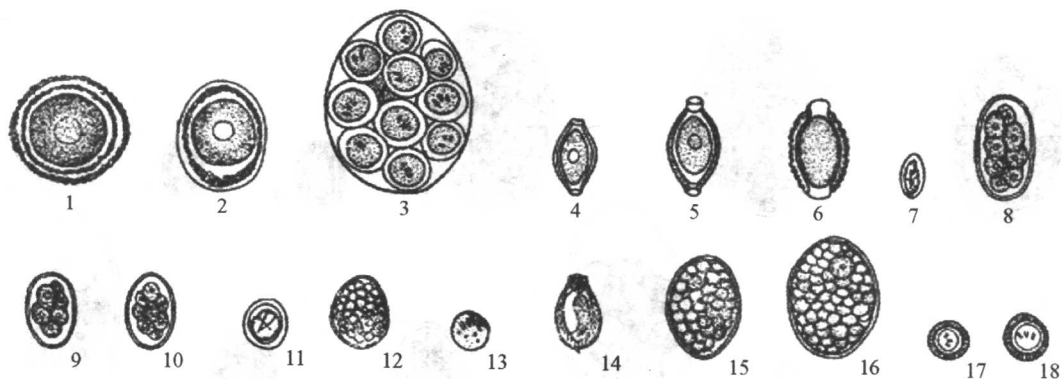


图 1-10 犬寄生虫卵

1. 犬弓首蛔虫卵 2. 狮弓蛔虫卵 3. 犬复孔绦虫卵 4. 毛细线虫卵 5. 毛尾线虫卵 6. 肾膨结线虫卵 7. 血色食道线虫卵 8. 犬钩口线虫卵 9. 巴西钩口线虫卵 10. 美洲板口线虫卵
11. 犬胃线虫卵 12. 裂头绦虫卵 13. 中线绦虫卵 14. 华支睾吸虫卵 15. 并殖吸虫卵 16. 抱茎棘隙吸虫卵 17. 细粒棘球绦虫卵 18. 泡状带绦虫卵

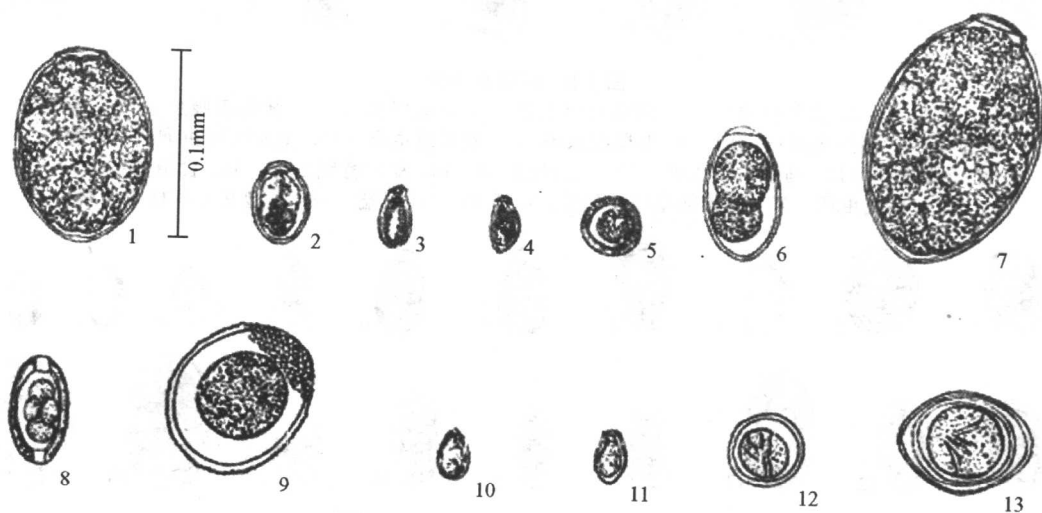


图 1-11 猫寄生虫卵

1. 叶状棘隙吸虫卵 2. 前并睾吸虫卵 3. 华支睾吸虫卵 4. 猫后睾吸虫卵
5. 肥颈带绦虫卵 6. 多刺颚口线虫卵 7. 真缘吸虫卵 8. 肝毛细线虫卵 9. 猫弓蛔虫卵 10. 异形吸虫卵 11. 横川后殖吸虫卵
12. 少钩双殖孔绦虫卵 13. 多钩莓头绦虫卵

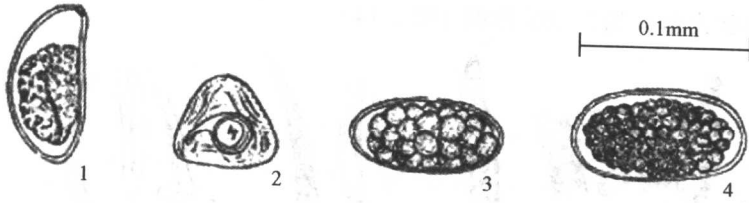


图 1-12 兔寄生虫卵

1. 兔蛲虫卵 2. 易变绦虫卵 3. 捻转毛圆线虫卵 4. 多毛胃线虫卵

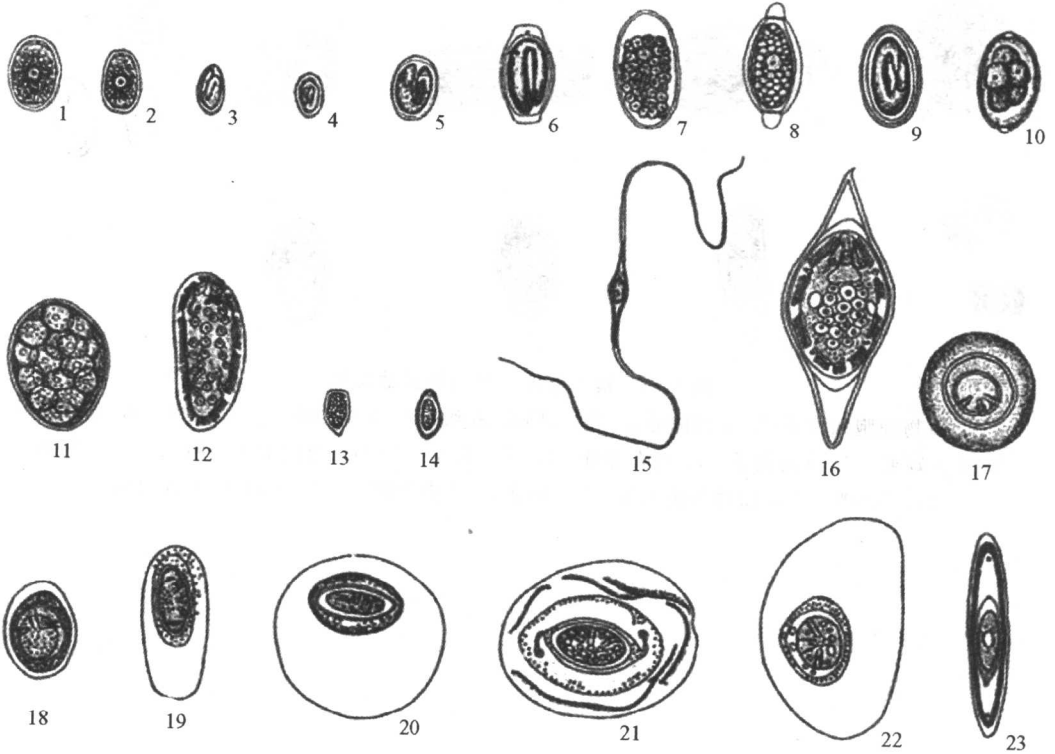


图 1-13 家禽寄生虫卵

1. 鸡蛔虫卵 2. 鸡异刺线虫卵 3. 类圆线虫卵 4. 孟氏眼线虫卵 5. 螺旋咽饰带线虫卵
6. 四棱线虫卵 7. 鹅裂口线虫卵 8. 毛细线虫卵 9. 鸭束首线虫卵 10. 比翼线虫卵
11. 卷棘口吸虫卵 12. 嗜眼吸虫卵 13. 前殖吸虫卵 14. 次睾吸虫卵
15. 背孔吸虫卵 16. 毛毕吸虫卵 17. 楔形绦虫卵 18. 有轮赖利
绦虫卵 19. 鸭单睾绦虫卵 20. 膜壳绦虫卵 21. 矛形剑带
绦虫卵 22. 片形皱褶绦虫卵 23. 鸭多型棘头虫卵

(四) 动物粪便内常见的其他物体图 (图 1-14)

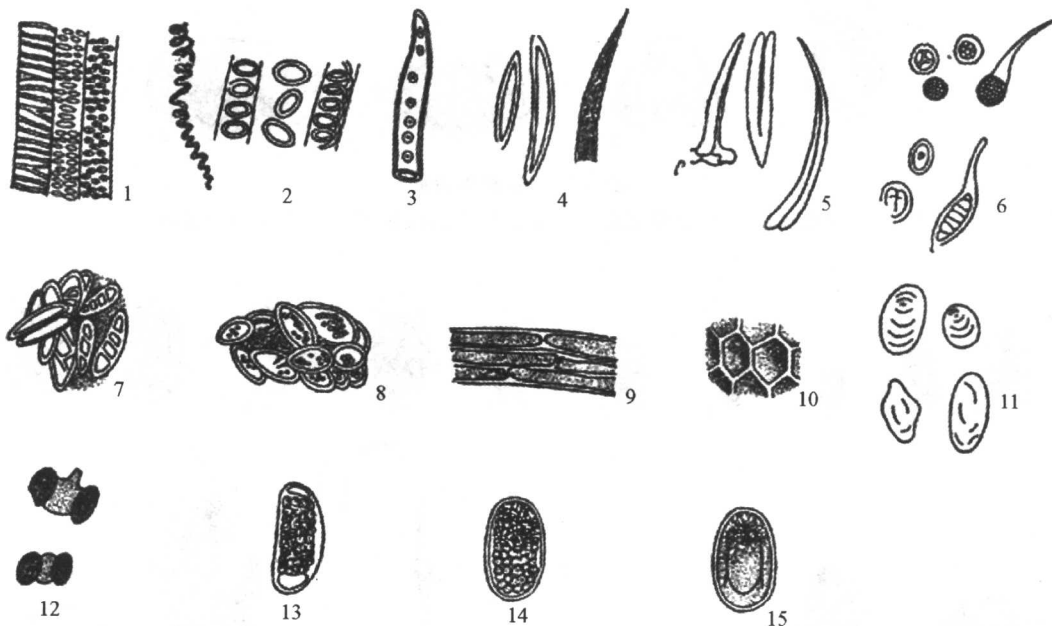


图 1-14 畜禽粪便中常见的其他物体

1~10. 植物细胞和孢子(1. 植物的导管:梯纹、网纹、孔纹 2. 螺旋和环纹 3. 管胞 4. 植物纤维 5. 小麦颖毛 6. 真菌孢子 7. 谷壳部分 8. 稻米胚乳 9~10. 植物薄皮细胞) 11. 淀粉粒
12. 花粉粒 13. 植物线虫虫卵 14. 螨卵(未发育的卵) 15. 螨卵(已发育的卵)

实验二 动物蠕虫学粪便检查技术(二)

一、实验目的及要求

- (1) 掌握动物蠕虫学常见的实验室粪便幼虫培养及检查技术。
- (2) 认识线虫幼虫和吸虫毛蚴等寄生虫幼虫的一般形态特征。

二、实验器材

载玻片, 盖玻片, 平皿, 培氏皿, 镊子, 烧杯, 塑料杯, 塑料袋, 漏斗, 漏斗架, 胶帽吸管, 离心管, 试管, 玻璃棒, 纱布, 脱脂棉, 粪筛, 锦纶筛(260 目), 搪瓷缸, 三角量筒, 三角烧杯, 胶塞, 表玻璃, 酒精灯, 平底孵化瓶, 贝尔曼氏装置(乳胶管两端分别连接漏斗和小试管), 显微镜测微器

(目镜测微尺、物镜测微尺),血球计数板,普通温箱,光学显微镜等。

碘液,家畜新鲜粪便等。

三、实验方法、步骤和操作要领(幼虫培养法、毛蚴孵化法、幼虫分离法、寄生虫学测微法)

(一)幼虫培养法(technique for the culture of third-stage larvae)

圆线目中有很多线虫的虫卵在形态结构上非常相似,难以进行鉴别。有时为了进行科学研究或达到确切诊断目的,可进行第三期幼虫(图 2-1)的培养,之后再根据这些幼虫的形态特征进行种类的判定。另外,做人工寄生性线虫感染试验时,也要用到幼虫培养技术。

幼虫培养的方法很多,这里仅介绍最简单的一种。

即取新鲜粪便若干,弄碎置培氏皿中央堆成半球状,顶部略高出,然后在培氏皿内边缘加水少许(如粪便稀可不必加水),加盖盖好使粪与培氏皿接触。放入 25~30℃ 的温箱内培养(夏天放置室内亦可)。每日观察粪便是否干燥,要保持适宜的湿度。经 7~15 d,第三期幼虫即可出现(Egg-L₁-L₂-L₃),它们从粪便中出来,爬到培氏皿的盖上或四周。这时,我们可用胶帽吸管吸上生理盐水把幼虫冲洗下来,滴在载玻片上覆以盖片,在显微镜下进行观察。

培养幼虫时如无培氏皿,可用一大一小两个平皿来代替,将小平皿(去掉盖)加上粪便放于大平皿中央,大平皿内加少许水,然后用大平皿盖盖上,即可进行培养。也可用两个塑料杯来培养幼虫,效果更好。即先将一个塑料杯(上大下小)一截为二,较小的底部用针扎许多小孔,装满待培养粪便,上用双层纱布蒙上,再把截下的那部分套上(头向下),使纱布绷紧;然后在另一个塑料杯内加少量水,把需要培养的粪便杯套在该杯上(纱布面朝下),外面套上塑料袋进行培养即可。培养好后,用幼虫分离法分离幼虫,即把装粪便的小杯放在分离装置的漏斗上(用三角量筒也可),同时把塑料杯内的水也倒入(用水冲洗几次)。注意在放培养物时务必小心,不要使粪便散开。

(二)毛蚴孵化法(miracidium hatching method)

毛蚴孵化法是专门用来诊断血吸虫病的,其原理是将含有血吸虫卵的粪便在适宜的温度条件下进行孵化,等毛蚴从虫卵内孵出来后,借着蚴虫向上、向光、向清的特性,进行观察,做出诊断。其方法有多种,如常规沉淀孵化法、棉析毛蚴孵化法、湿育孵化法、塑料杯顶管孵化法、尼纶筛网集卵孵化法等,这里只介绍其中两种方法(图 2-2)。

1. 常规沉孵法(又称沉淀孵化法或沉孵法) 取粪便 100 g,放入搪瓷缸内捣碎。加水约 500 mL,搅拌均匀,通过粪筛滤入另一个容器内,加水至九成满,静置沉淀,之后将上清液倒掉,再加清水搅匀,沉淀。如此反复 3 或 4 次。第一次沉淀时间约为 30 min,以后 20 min 即可。最后将上述反复淘洗后的沉淀材料加 30℃ 的温水置于三角烧杯中,瓶口用中央插有玻璃

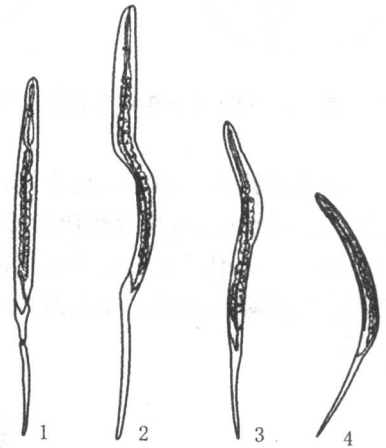


图 2-1 马属动物圆线虫第三期幼虫

1. 马圆线虫 2. 普通圆线虫 3. 无齿圆线虫 4. 小型圆线虫