

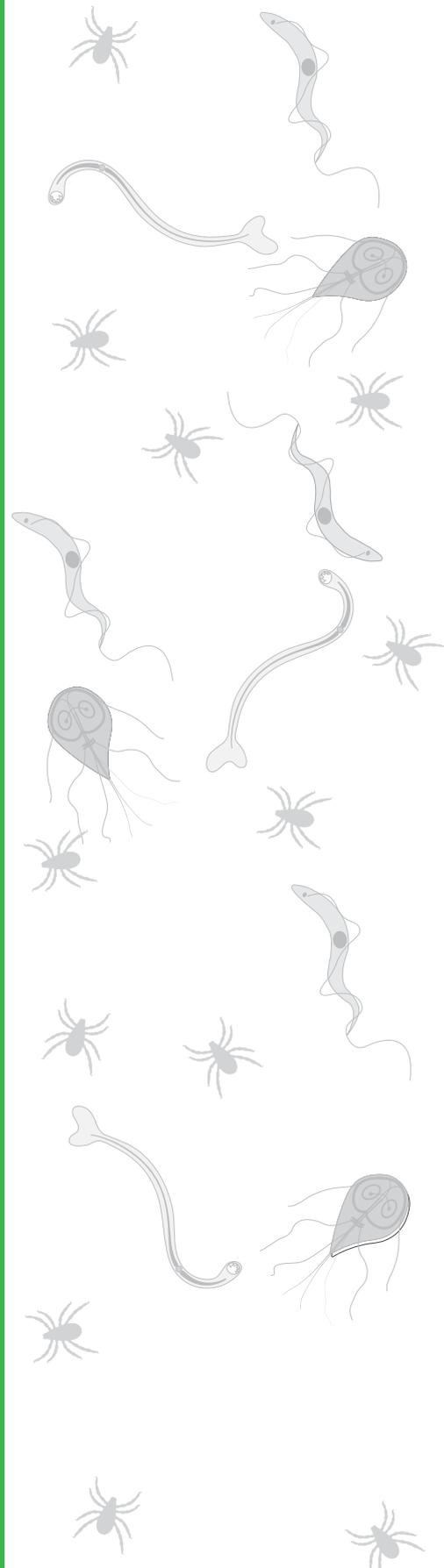


TroCCAP

热带伴侣动物寄生虫学委员会

热带地区犬猫的体内外寄生虫诊断标准程序
第一版，2023年5月10日

本“标准程序”首次由 TroCCAP 于2023年出版，TroCCAP保留所有版权。使用本“标准程序”要遵守 TroCCAP的版权要求。以任何形式再分发，或以任何格式复制部分或全部内容，或通过媒体、电子、机械、影印、录音或其他方式的使用均需要预先获得TroCCAP的书面许可。



免责声明

本手册中提出的指导方针是由热带伴侣动物寄生虫学委员会制定的

这些最佳实践指南以循证、同行评议、已发表的科学文献为基础。经过作者们的辛勤付出和严谨审核，以确保所提供的信息准确且最新。

在采用下述准则中的建议时，必须酌情考虑个别情况。

赞助商

热带伴侣动物寄生虫学委员会希望感谢我们的赞助者的慷慨捐赠，促进了这些免费提供的指南的出版。



目录

总体考虑及建议.....	2
粪便分析标准操作程序 (SOP)	6
标准操作程序 1: 简单的粪便漂浮法	7
标准操作程序 2: 离心粪便漂浮法	10
标准操作程序 3: 贝尔曼法	13
标准操作程序 4: 简单沉淀法	15
标准操作程序 5: 隐孢子虫卵囊抗酸染色	18
血液分析标准操作程序.....	20
标准操作程序 6: 改良 Knott's 检验.....	20
标准操作步骤 7: 微量血细胞比容法检测微丝蚴.....	23
标准程序操作 8: 血涂片 (包括耳尖毛细血管血涂片)	24
标准操作程序 9: 血沉棕黄层涂片	27
皮肤分析标准操作程序.....	29
标准操作程序 10: 胶带/醋酸酯条片法	29
将所有的一次性设备丢在临时垃圾箱或者锐器盒中.....	29
标准操作程序 11: 毛发显微图像分析/拔毛法	30
标准操作程序 12: 皮肤刮屑用于螨虫检查和胶带法.....	31
标准操作程序 13: 皮肤活检	32
其他程序.....	33
标准操作程序 14: 耳螨观察	33
标准操作程序 15: 脓疱型蠕形螨病	35
标准操作程序 16: 尿液沉淀	36
鉴定参考.....	37

总体考虑及建议

诊断

- 生活在热带和亚热带地区的犬应至少每三个月进行一次胃肠道寄生虫检测，以确保寄生虫控制制度的实施效果良好，并监测主人是否遵守了相关的防治措施。
- 应定期(每年两次)对猫进行体内寄生虫检测，以确保寄生虫控制制度的实施效果良好，并监测主人是否遵守了相关的防治措施。
- 临床症状可能在寄生虫卵或幼虫随粪便排出阶段之前出现，在这种情况下，病史和临床症状对于指导治疗决策非常重要。
- 标准或改良粪便漂浮法可用于诊断大多数但不是全部的猫犬寄生虫。在某些情况下，对于特定的寄生虫，其他方法如粪便沉淀或更敏感的诊断方法可能更合适，这些在犬和猫寄生虫指南中有说明 (<https://www.troccap.com/canine-guidelines> 和 <https://www.troccap.com/felineguidelines>)。
- 怀疑发生血液寄生虫感染的动物的血液涂片应使用通过耳尖或外唇边缘采集的新鲜毛细血管血液或新鲜静脉血液制成。对于棕黄层涂片法，可以使用新鲜静脉血液或采集到 EDTA 管中的血液。血液涂片应在采血后立即制作，以最好地保持寄生虫形态，因为一些血液微生物可以离开宿主血液细胞（例如血液原虫）
- 可以通过各种特定的实验室方法检测病媒生物传播的病原体，其中一些可作为临床商业检测。
- 在某些情况下，应采用补充方法(例如血常规检查、尿液分析、X 光和超声波心动图)，以更好地指导患者的治疗和管理。在某些情况下，成像工具也可能有助于确诊，例如超声波心动图可显示右心房或动脉内是否存在心丝虫，计算机断层扫描可显示眼球后间隙内是否存在盘尾丝虫。
- 相对较大的体外寄生虫（如蜱、蚤和虱）的侵袭通常可以在宏观上看到。
- 螨感染应通过显微镜检查皮肤刮片（用于蠕形螨、疥螨和猫耳螨）、拔取的毛发或粘贴的胶带（对于家猫食毛螨（*Lynxacarus radovsky*）和姬螯螨属）或使用耳镜检查（特别是对于耳螨）进行诊断。
- 没有任何技术是 100%敏感的，因此在某些情况下，寄生虫感染可能仍然未被检测出来。

检查载玻片的最佳显微镜技术

- 打开显微镜载物台附近的聚光镜，扫描时根据需要降低光源亮度以增加对比度。
- 在 4 倍物镜下，使用粗调焦旋钮以获得清晰的视野。
- 在 10 倍和 40 倍的物镜下（如果有 20 倍或 60 倍也可以使用）系统地检查，确保整个玻片标本都被观察到。在观察过程中要确保不断地微调焦距以获得清晰的视野。
- 在切换物镜镜头时可以使用光圈来调节光源强度和对比度。
- 一些标本（如血液涂片）应在油镜下进行镜检（物镜 100X）。只有在低倍镜下观察完成后才能使用 100X 物镜。使用时需要滴一滴油在载玻片/盖玻片上，然后转至 100X 物镜。同时需要避免油污污染其他（40X, 60X）干燥镜片，如果发生污染情况，应用擦镜纸轻轻擦拭被污染的物镜，在某些情况下建议使用少量溶剂。使用溶剂之前应该先向显微镜制造商咨询一下最佳解决办法。

粪便检测的方法

- 粪检方法是“某一时刻快照”。也就是说，粪便分析方法只能代表一个特定的时间点，即粪便收集的时间。然而，由于病原体可能间歇性排出或低数量排出，这就可能导致在粪便检查时出现漏检。此外，犬和猫体内的寄生虫可能在检测时处于未成熟阶段，但在检测结果显示阴性后几天内开始排卵。
- 间歇性的排出卵囊/囊孢/卵/幼虫或其在粪便中未检测到，即使在有症状的情况下，也可能使寄生虫感染的诊断变得复杂。
- 每隔一天（首选）或连续几天采集 3 至 5 份样本，能够增加在粪便中发现寄生虫诊断阶段的可能性。
- 新鲜材料可以提供最好的结果。如果粪便不能在采集后立即进行检测，可将其在 3-5°C（非冷冻!）下冷藏几天。
- 在分析之前应显微镜检查粪便中的血液、粘液、虫体节片和线虫，粪便的粘稠度和颜色（可能是上消化道或下消化道出血的迹象）也应在解释结果时考虑。

粪便漂浮法

- 漂浮方法的灵敏度取决于所使用的漂浮液和所检测到的卵囊/囊孢/卵的比重（S.G.）。两者之间需要有足够的差异才能使卵囊/囊孢/卵漂浮。见表 1。
- 对于大多数猫和犬体内寄生虫的诊断，建议使用比重在 1.18 到 1.28 之间的漂浮液。见表 2。
- 一些漂浮液可能会破坏卵囊/囊孢/卵/幼虫。
- 粘性较大的溶液需要离心。
- 漂浮液的选择取决于所使用的漂浮方法和所需检测的寄生虫。
- 使用定量的粪便和定量的漂浮液可以进行定量评估。
- 如果在分析之前将粪便冷冻或用福尔马林（2%甲醛）保存，寄生虫的检出率可能会受到影响。

表 1 寄生虫卵基于平均比重的漂浮能力

<p><u>所有漂浮液均能较容易的使其漂浮起来</u></p> <p>囊等孢球虫属（球虫）（<i>Cystoisospora</i> spp. (coccidia)）</p> <p>钩虫属（钩虫）（<i>Ancylostoma</i> spp. and <i>Uncinaria</i> sp. (hookworms)）</p> <p>犬弓首蛔虫（蛔虫）（<i>Toxocara canis</i> (roundworm-ascarid)）</p> <p>猫弓首蛔虫（蛔虫）（<i>Toxocara cati</i> (roundworm-ascarid)）</p> <p>狮弓首蛔虫（蛔虫）（<i>Toxascaris leonina</i> (roundworm-ascarid)）</p>
<p><u>需要更高比重的溶液和离心处理</u></p> <p>狐毛首线虫（鞭虫）（<i>Trichuris vulpis</i> (whipworm)）</p>

一些吸虫卵，如后睾吸虫属、支睾吸虫属、单睾吸虫属、扁体吸虫属（如 *Opisthorchis* spp., *Clonorchis* spp., *Haplorchis* spp., *Platynosomum* sp.）（猫肝脏和小肠吸虫）注意：常见假阴性；使用沉淀法会更灵敏。

带绦虫属，棘球属（*Taenia* spp., *Echinococcus* spp.,）注意：常见假阴性

舌虫属（舌形虫）（*Linguatula* spp. (tongue worm)）

难以漂浮：要么在溶液中塌陷，要么太重

泡翼线虫属（胃蠕虫）（*Physaloptera* spp. (stomach worm)）；卵壳塌陷

狼旋尾线虫（食管蠕虫）（*Spirocerca lupi* (esophageal worm)）；卵壳塌陷

犬复孔绦虫（常见绦虫）（*Dipylidium caninum* (common tapeworm)）；比重大，注意假阴性常见

吸虫卵如裂头属、迭宫绦虫属、并殖吸虫属、棘口吸虫属、重翼吸虫属（*Diphyllbothrium* spp., *Spirometra* spp., *Paragonimus* spp., *Echinostoma* spp., *Alaria* spp.）；比重大并且卵壳有裂口的话液体容易渗入卵中

表 2 常见的漂浮液及其比重

溶液	S.G.	配方
Sheather 糖水	1.27-1.3	454 g 砂糖溶解于 355 mL 热水和 6 mL 甲醛中 (37-40% 甲醛) 注：可使用 30 mL 10%福尔马林代替，将 355 mL 的水降至 325 mL
饱和盐水	≈ 1.2	350 - 400 g NaCl 溶解于 1L 水中
硫酸镁	≈ 1.2	350 - 400 g 硫酸镁溶于 1L 水中；如果使用七水合物，则为 700 g 硫酸镁
硫酸锌	≈ 1.18 - 1.2 (1.25)	330- 390 g 硫酸锌溶于 900 mL 水中
硫酸钠	≈ 1.18 - 1.2	315- 400 g 溶于 700mL 水中
所有的配方都是类似的。应使用比重计来确认比重。溶液应在室温下测定比重。		
关于制备和测量漂浮液的标准比重的示例，请参考 https://youtu.be/Skx7JDUL6IE		

贝尔曼法

- 本方法用于从粪便中收集和鉴定线虫幼虫。
- 所使用的粪便量会影响该方法的灵敏度，当存在的幼虫数量较少时，粪便少会导致灵敏度降低。
- 在进行贝尔曼法之前将粪便冷藏可能会降低幼虫的回收率。

- 贝尔曼装置中放置的水的温度和室温会影响幼虫的回收率。为了提高幼虫的回收率，温度应该与幼虫在环境中遇到的温度相似。
- 在贝尔曼装置中使用的水应该是温热的（例如 42°C 或皮肤仍然可以忍受的温度）。
- 粗棉布比纱布更适合用于贝尔曼装置，并且应该使用较少层数以防止幼虫被困。

沉淀法

- 沉淀法通常用于处理大而重的虫卵，如吸虫卵和复孔绦虫卵，所有可诊断阶段的虫卵都沉入水中。
- 沉降的挑战在于难以看到较小的物体。因此，对于粪便中一些虫卵的诊断阶段来说，这不是首选的方法。考虑使用比重 >1.25 的溶液进行离心漂浮，或在沉淀前使用 0.1 mm 滤茶器过滤均质粪便样本。
- 使用的粪便数量和检查的沉淀物都会影响沉淀法的敏感性。
- 该方法也可用于从粪便中收集和鉴定幼虫。

血液寄生虫检测技术

- 血液寄生虫包括线虫的微丝蚴阶段和原虫的不同阶段，其中许多是病媒生物传播的。还有一些重要的媒介传播的嗜血细菌，如埃利克体（*Ehrlichia*）和嗜血支原体（*Haemoplasmas*）。
- 一般来说，使用某种形式的血液浓度（例如，用于微丝蚴的改良 Knott 试验，用于白细胞内病原体的血沉棕黄层涂片）和染色的方法比直接涂片更灵敏。
- 除了检查血液中的病原体外，商品化试剂盒和实验室检测还可以识别不同寄生虫的抗体、抗原或 DNA 的存在。抗体结果必须在了解生活史的基础上进行解释，因为这些结果可能表明是否存在寄生虫。针对病原体产生的抗体在治愈后可能存在长达一年。请参阅犬/猫寄生虫指南，了解使用这些工具进行诊断的信息。

体外寄生虫诊断技术

- 在确定用于检查的样本采集（毛发、胶带）时，应考虑寄生虫的偏好部位。
- 对于长有底毛或长毛的犬和猫，分开毛发对于发现耳尖和皮肤上的寄生虫很重要。

粪便分析标准操作程序 (SOP)

粪便收集和保存

一个高质量的粪便分析应该从粪便收集开始。粪便应在排便后立即收集（从地面或砂盆中），在分析前保存在 3 至 5°C 之间（除非进行贝尔曼检测方法），并在收集后 5 天内进行分析。在犬/猫排便后立即收集粪便有助于确保粪便的来源是干净的，并减少土壤线虫污染的可能性。也可以从直肠进行采集，但通常从排出的粪便中获得的大量样本可以增加实验的可重复次数，并确保有足够的量用于漂浮、沉淀和/或贝尔曼法检测。

粪便应放置在干净的容器中，并贴上动物标识和收集日期的标签。

应要求客户尽快将收集到的粪便带到诊所进行分析。

收集后及运送至诊所的过程中，粪便应保存在阴凉环境。一旦送到诊所，在进行分析之前进行冷藏可以减缓寄生虫的发育，使鉴定变得更容易。

虽然许多寄生虫在新鲜粪便中没有传染性，但在有棘球绦虫（*Echinococcus spp.*）的流行区，收集和分析粪便样本期间应采取额外的防护措施。

每分钟转数（RPM）与重力

对于许多离心机来说，可以用一个表来确定基于 rpm（每分钟转数）获得的重力（或相对离心力）。然而，如果无法获得该表，则可以按以下公式计算：

$$\text{重力 (g)} = 1.12 \times \text{转子半径毫米} \times (\text{rpm}/1000)^2$$

也可以使用在线计算器（如 http://insilico.ehu.es/mini_tools/rcf_rpm.php）进行转换。

S.G.（比重）

S.G. 是单位体积物质与水的重量之比，可以通过溶液的重量或比重计来测定。比重计应在室温下使用。

如果使用重量，1L 溶液的重量为 1.2 kg，其 S.G. 为 1.2。

如果使用比重计，确保量程适合溶液。典型的比重计量程为 >1.0-1.22 和 1.2-1.4。

有关制备和测量漂浮液 S.G. 的示例，请参阅：<https://youtu.be/Skx7JDUL6IE>

标准操作程序 1：简单的粪便漂浮法

简单的粪便漂浮法适用于从犬、猫粪便中回收和鉴定大多数线虫虫卵、部分绦虫虫卵、舌形虫（*Linguatula serrata*）以及原虫包囊和卵囊。该方法快速、廉价，不需要使用离心机。然而，由于该方法不包括浓缩步骤，不能使用具有高 S.G.的粘性漂浮液，当粪便中卵/包囊数量较少以及包含某些具有稍微较高 S.G.的虫卵（例如鞭虫（*Trichuris*））时，检出敏感性会降低。

试剂/材料

- 漂浮液（如饱和盐水或硝酸钠）
- 载玻片和盖玻片
- 宽口杯（例如，可重复使用/可清洗的尿液收集杯或一次性塑料/纸杯）
- 10-15 mL 一次性试管或 10-15 mL 窄口可重复使用的玻璃杯
- 滤茶器、纱布或粗棉布
- 搅拌棒（例如，压舌板）

制备比重 1.20 的漂浮液

- 硝酸钠
将 315-400g 硝酸钠溶解于约 700mL 加热的蒸馏水（dH₂O）中。加入更多的 dH₂O，直到整个溶液重 1200g（相当于比重为 1.20）。混匀溶液，然后用比重计测量比重。
- 饱和食盐水
将食盐（NaCl，约 300-400g）溶解于 1000mL 加热的 dH₂O 中，不断搅拌。加入食盐直到不再溶解（盐在溶液冷却后会从溶液中析出）。用比重计测量比重。

步骤

1. 使用搅拌棒，将约 2g 粪便放入宽口杯（一次性塑料杯/可洗可重复使用的杯（如尿杯）/无菌尿瓶）中。
2. 在杯中加入~4mL 漂浮液，用搅拌棒将漂浮液与粪便充分混合。
3. 再向杯中加入~4mL 漂浮液，再次混合。
4. 用滤茶器/纱布/粗棉布将粪便悬浮液倒入/过滤到一个新杯子中。
5. 将杯中物质倒入 10-15mL 的试管中，置于试管架内，或倒入 10-15mL 的窄口玻璃瓶中。
6. 继续添加内容物或补充漂浮液，直到试管/玻璃瓶口形成正弯液面。最后 1ml 的漂浮液可以用滴管滴加，以确保弯液面形成。
7. 小心地将一个盖玻片（大约 22 × 22mm）放在试管的顶部。
8. 静置 10-15min。
9. 小心地从试管上取下盖玻片，让液滴粘在其底部，并将其放在载玻片上。
10. 在光学显微镜下检查，低倍镜（10 倍物镜；100 倍放大）下检测蠕虫虫卵，高倍镜（40 倍物镜；400 倍放大）下检测原虫卵囊或包囊。

以上步骤，还可以参考配有图像的分步指南，请参阅：

http://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Flotation/Simple_flotation/Purpose.htm

安全预防措施

穿着白大褂和佩戴一次性手套
结束之后彻底洗手

清理步骤

将硝酸钠倒入适当的化学废物容器中。
将所有载玻片、盖玻片和一次性试管放入锐器盒中。
用 10%漂白剂溶液彻底清洁所有器具（滤茶器，可重复使用的杯子）
用 70%乙醇擦拭工作区域



将大约 2g 粪便样本放入一个宽口杯中，加入约 4mL 漂浮液，彻底混合。再加入约 4mL 漂浮液再次混合。

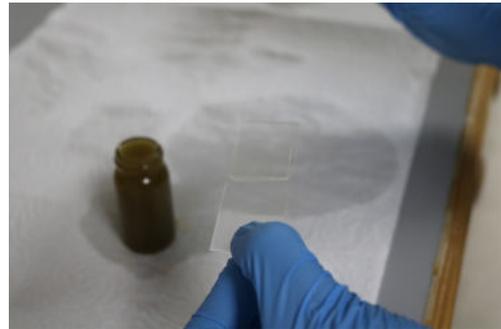
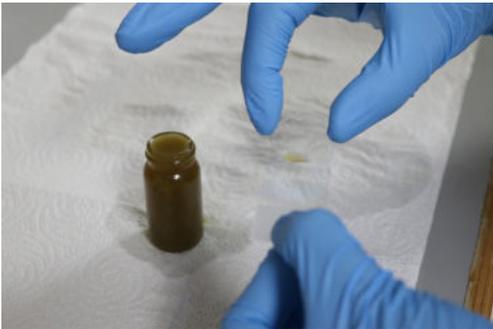




用纱布、粗棉布或滤茶器将溶液过滤到一个干净的杯子里。



将过滤后的溶液倒入试管或 10-15mL 的窄口玻璃瓶中。再次加入漂浮液，直到正弯液面形成。将盖玻片置于瓶口。



10-15min 后，取下盖玻片，放于载玻片上。

标准操作程序 2：离心粪便漂浮法

硫酸锌[比重为 1.18]离心漂浮法适用于分离和鉴定粪便中的原虫包囊和卵囊，特别是十二指肠贾第虫包囊（*Giardia duodenalis*）。饱和蔗糖溶液 [比重为 1.27] 离心漂浮法对较重的线虫卵（如狐毛首线虫（*Trichuris vulpis*）、狼旋尾线虫（*Spirocerca lupi*）和扁体吸虫（*Platynosomum*））的分离较为敏感。离心漂浮法虽然价格低廉，却需要使用到离心机。

试剂/材料

- 漂浮液（如硫酸锌溶液或 Sheather 糖溶液）
- 卢戈氏碘液（Lugol's iodine）
- 载玻片和盖玻片
- 宽口杯或玻璃瓶（例如可重复使用/可清洗的尿液收集杯或一次性塑料/纸杯）
- 10-15mL 一次性或可重复使用的试管
- 滤茶器、纱布或粗棉布
- 搅拌棒（例如压舌板）
- 10-15mL 离心管；摇摆桶式离心机首选

制备漂浮液

- 硫酸锌溶液（比重为 1.18）
将 331g 硫酸锌溶于 900mL 加热的蒸馏水（dH₂O）。加入更多的 dH₂O，直到整个溶液重量为 1180g（此时溶液比重为 1.18）。混合溶液，然后用比重计检查比重。注：如果使用七水合硫酸锌，则需要更大质量（例如大约 750g）。
- Sheather 糖溶液（比重为 1.27）
在 355mL 热水中加入 454g 糖，边加入边搅拌。每 454g 糖加入 6mL 10%福尔马林（10 mL 40%甲醛加入 90mL dH₂O），以避免真菌污染。使用比重计调整质量以确保比重为 1.27。

步骤

1. 用搅拌棒将约 2g 粪便转移至宽口杯/瓶中。
2. 在杯/瓶中加入~4mL 漂浮液，用搅拌棒将溶液与粪便充分混合。
3. 向杯/瓶中加入 4mL 漂浮液，再次混合。
4. 用滤茶器、纱布或粗棉布将粪便悬浮液倒入一个新的宽口杯/瓶中。
5. 将杯/瓶中的内容物倒入 10-15mL 离心管中，置于离心管架内。
6. 500 g 离心 5 min。
7. 小心地添加漂浮液，直到试管顶部形成正弯液面，并在顶部放置一个盖玻片（约 22 x 22 mm）。
8. 再静置 5-10min。
9. 小心地将沾有液滴的盖玻片从试管上提起，并将其放在载玻片上。在盖上盖玻片之前，在载玻片上加入一滴 Lugol 碘液，可以使贾第鞭毛虫（*Giardia*）包囊更容易被看到。
10. 在光学显微镜下检查，在低倍镜（10倍物镜；100倍放大率）下检测蠕虫虫卵，高倍镜（40倍物镜；400倍放大率）下检测原虫包囊和卵囊。

使用摇摆桶式离心机的步骤

1. 参照上面的步骤 1 到步骤 5。
2. 小心地添加更多的漂浮液，直到试管顶部形成正弯液面，并在顶部放置一个盖玻片（约 22 x 22 mm）。
3. 500 g 离心 10 min。
4. 参照上面的步骤 9 和步骤 10。

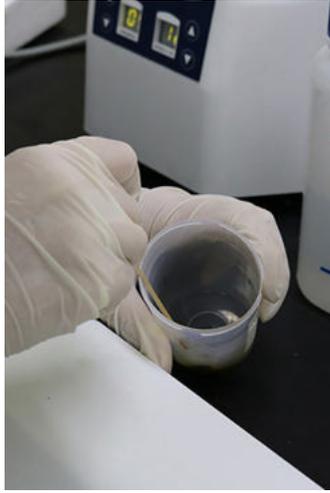
安全预防措施

穿着白大褂和佩戴一次性手套
结束之后彻底洗手

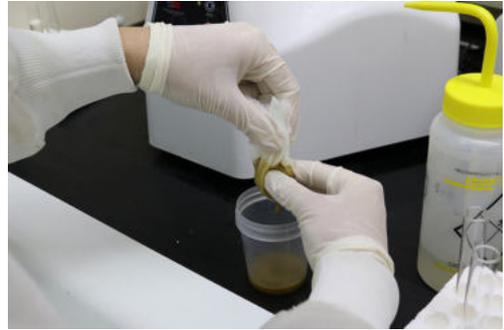
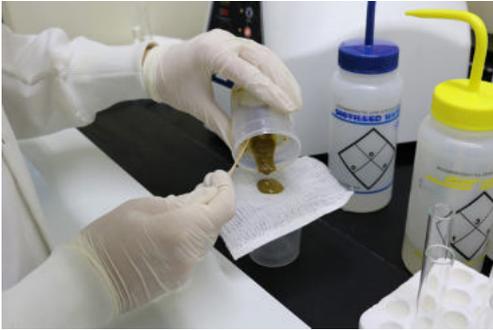
清洁步骤

将硫酸锌倒入适当的化学废物容器中
将所有载玻片和盖玻片放入锐器盒中
用 10%漂白剂溶液彻底清洁所有器具（滤茶器、玻璃试管）
用 70%乙醇擦拭工作区域





将约 2g 的粪便放入一个干净的杯子中。将粪便与漂浮液混合。



将溶液倒入粗棉布/纱布/滤茶器；轻轻按压以收集溶液。将溶液倒入离心管中。



将离心管放入离心机，500 g 离心 5min。

在摇摆桶式离心机中，可以将载玻片盖于离心管口进行离心。对于所有其他离心机，离心后加入漂浮液，直到形成一个正弯液面，然后将盖玻片置于管口，静置 5-10min。取下盖玻片，置于载玻片上，在 100 倍放大率下观察。

标准操作程序 3：贝尔曼法

贝尔曼法适用于分离和鉴定新鲜粪便中的线虫幼虫(如粪类圆线虫 (*Strongyloides stercoralis*) 和肺线虫 (lungworms))。

试剂/材料

- 蒸馏水 (dH₂O)
- 塑料或玻璃漏斗，橡胶管和夹钳或 50mL 离心管
- 滤茶器、纱布或粗棉布
- 牙签、橡皮筋或细绳

设备安装

将漏斗固定在支架上；将带夹子的橡胶管连接到漏斗杆上。

步骤

1. 将 3 - 5g 粪便放在一大块粗棉布/纱布的中心，用橡皮筋、绳子或牙签扎成一个袋子。
2. 将袋子放入悬在漏斗中的滤茶器上。如果使用的是 50mL 离心管，不用滤茶器，直接将小袋悬挂在离心管中。
3. 向漏斗中加入温热的 dH₂O，直至水没过装有粪便的布袋的顶端，或向 50mL 管中加入 dH₂O，直至粪便被覆盖。
4. 静置 12-24h，检测肺线虫幼虫时静置过夜，检测粪类圆线虫 (*Strongyloides stercoralis*) 时静置 6 h。
5. 如果使用漏斗，打开橡胶管上的夹子，收集 2mL 过滤后的沉淀物于试管中。如果使用 50mL 离心管，继续步骤 7。
6. 试管静置 30min 或 500 ~ 1000 g 离心 2min。
7. 用移液管小心地除去上清，留下~0.5 mL 未受影响的沉淀物。
8. 取 1-2 滴沉淀物滴于载玻片上，用盖玻片盖住。根据需要重复。
9. 在光学显微镜下检查，在低倍镜（10 倍物镜；100 倍放大率）下检测幼虫，高倍镜（40 倍物镜；400 倍放大）下确认幼虫的生殖系统、食道和尾部形态。

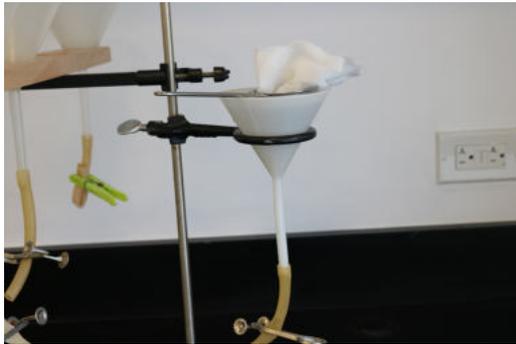
安全防护措施

穿着白大褂和佩戴一次性手套
结束之后彻底洗手

清洁步骤

将所有载玻片和盖玻片放入锐器盒中。
用 10%漂白剂溶液彻底清洁所有器具（滤茶器、漏斗、玻璃试管）
用 70%乙醇擦拭工作区域

贝尔曼装置法（配有胶管和夹子的漏斗）



称取 3 - 5g 粪便，放在粗棉布/纱布上。放入滤茶器内，置于漏斗中。装满水。静置过夜后，打开夹钳，收集 2mL 沉积物。

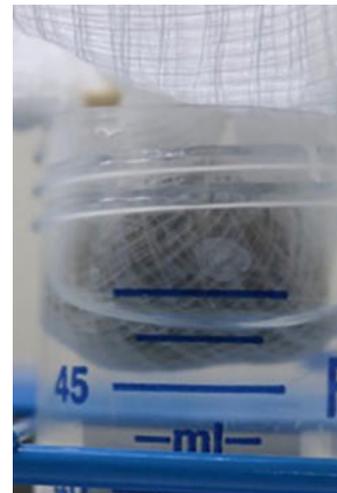
离心管（50mL）法



Step 1.



Step 2.



Step 3.

第一步：将粪便放在纱布/粗棉布的中心。

第二步：用温水将其悬浮于 50mL 试管中；加水，直到粪便被覆盖。加入更多的水。

第三步：静置 6-24h 后（视寄生虫虫种而定），除去沉淀物进行显微镜观察。

标准操作程序 4：简单沉淀法

粪便沉淀技术适用于较重的虫卵的分离和鉴定，特别是吸虫（如重翼吸虫（*Alaria* spp.）、并殖吸虫（*Paragonimus* spp.）等）和某些绦虫（如迭宫绦虫（*Spirometra* spp.）、阔节裂头绦虫（*Diphyllobothrium latum*））。该方法快速、廉价，不需要使用离心机。

试剂/材料

- 蒸馏水（dH₂O）
- 5%亚甲基蓝水溶液
- 滤茶器或网筛（约 0.1mm 孔径）
- 塑料杯/瓶
- 50mL 锥形管

步骤

1. 5g 粪便浸泡在 50mL dH₂O 中，充分混合。
2. 通过滤茶器/纱布/网筛过滤至塑料瓶中。孔径要求不小于 150 μ m。
3. 将所有内容物倒入锥形试管（50mL）中。
4. 沉淀 5min 或 650g 离心 10min。
5. 倒掉上清。
6. 加水，混匀，沉淀 5min。
7. 小心倒掉上清。
8. 在试管中加入 1-2 滴 5% 亚甲基蓝水溶液，以辅助鉴定（蓝色背景下可以看到黄色或无色吸虫卵）
9. 将 1 - 2 滴沉积物滴加于载玻片上，放置盖玻片，使用光学显微镜低倍镜（4 倍物镜（40 倍放大）和 10 倍物镜（100 倍放大））检查。

安全预防措施

穿着白大褂和佩戴一次性手套
结束之后彻底洗手

清洁步骤

将所有的载玻片和盖玻片放入锐器盒中。
用 10%漂白剂溶液彻底清洁所有器具（滤茶器、玻璃试管）
用 70%乙醇擦拭工作区域

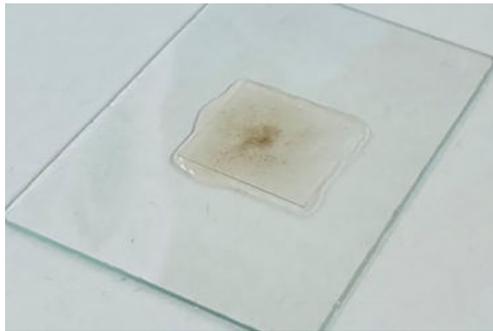
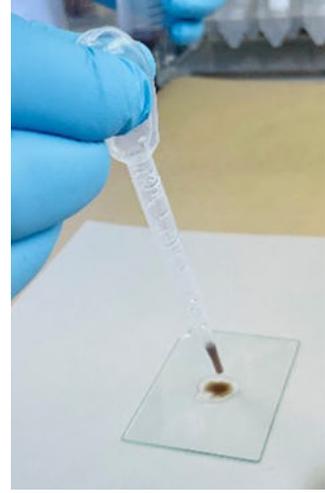


将 5g 粪便浸泡在 50mL dH₂O 中，充分混合。



将粪便/水混合物通过滤茶器/纱布/网筛过滤至塑料瓶中。将所有内容物倒入锥形试管中（50mL）。静置沉淀 5min。

无配图部分：加水到管中，混合，静置沉淀 5min，小心倒掉上清。



将 1 至 2 滴沉积物滴加于载玻片上，放置盖玻片，使用光学显微镜低倍镜检查。

标准操作程序 5：隐孢子虫卵囊抗酸染色

由于隐孢子虫属（*Cryptosporidium* spp.）的卵囊非常小，没有经验的检查人员很难检测到，这种方法提供了特定的染色，使检测更加容易。

试剂

- 无水甲醇
- Kinyoun's 苯酚（也称石炭酸）品红染液
- 10%硫酸溶液（ H_2SO_4 ）
- 3%孔雀绿

步骤

1. 在载玻片上涂上一层薄薄的粪便样本，风干。
2. 使用无水甲醇固定 10min，然后等待涂片干燥。
3. 使用 Kinyoun's 苯酚品红（过滤后）染色 5min。
4. 自来水彻底清洗，直到无染料颜色存在（非常重要的一步，可能需要 3-5min）。
5. 于 10% 硫酸溶液中脱色（对于非常薄的涂片，在科林酸瓶中快速浸泡之后立即用自来水冲洗即可）。
6. 用 3%孔雀绿复染 2-5min。
7. 用自来水清洗，并吸干水分。
8. 在光学显微镜高倍镜（40 倍物镜；400 倍放大率）下检查卵囊。

结果

卵囊抗酸性，呈亮粉色，椭圆形至圆形（直径 4-6 μ m），周围有一圈无色光晕。细菌和酵母菌被染成绿色。

安全预防措施

穿着白大褂和佩戴一次性手套

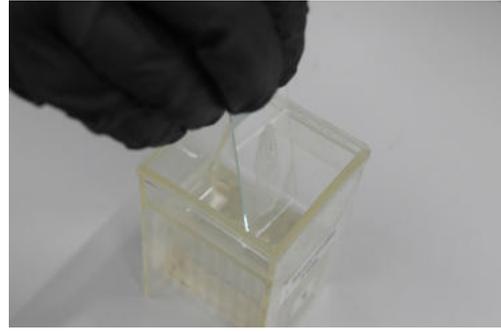
结束之后彻底洗手

清洁步骤

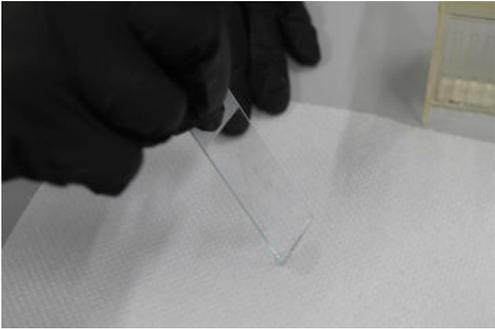
视情况将所有一次性器材弃置于医疗废物桶或锐器盒内。



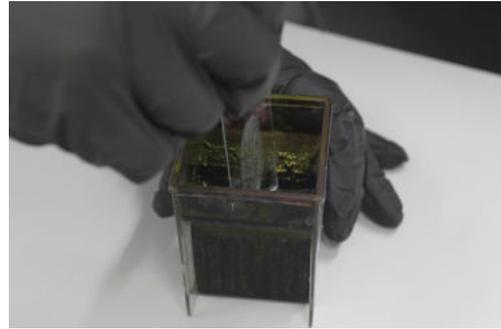
第一步



第二步



第三步



第四步



第五步



第六步



第七步



第八步

血液分析标准操作程序

标准操作程序 6：改良 Knott's 检验

本方法用于检测血液中微丝蚴。这种方法比用新鲜血液直接涂片更灵敏，因为它能从大量血液中浓缩微丝蚴。除血清学检测外，这种方法还可以检测和鉴定除了犬恶丝虫 (*D. immitis*) (如匍行恶丝虫 (*D. repens*)、棘唇线虫属 (*Acanthocheilonema* spp.)、布鲁格丝虫属 (*Brugia* spp.)) 之外的其他虫种的微丝蚴。应在夜间采集血样，以提高检测恶丝虫属 (*Dirofilaria* spp.) 微丝蚴的灵敏度。

试剂/材料

- 2%福尔马林 (向 98mL dH₂O 中加入 2mL 40%甲醛)
- 1%亚甲基蓝
- 锥形离心管
- 载玻片和盖玻片
- 吸管

步骤

1. 将 1mL 未凝固的血液 (含有肝素或 EDTA) 与 9mL 2%福尔马林在锥形离心管中混合。
 2. 将离心管轻轻倒置 4 次以混合溶液。
 3. 500g 离心 5min。
 4. 丢弃上清
 5. 滴加 1-2 滴 1%亚甲基蓝染色沉淀物 1-2min。
 6. 在载玻片上滴一滴样品，盖上盖玻片。准备 2 张或更多的载玻片以重复此步骤；这增加了敏感度。
 7. 注意：重复步骤 1-6 可以提高敏感度。
 8. 在光学显微镜低倍镜下 (10 倍物镜，100 倍放大率) 检查微丝蚴。微丝蚴的特殊形态鉴定可能需要更高的放大倍率。
- 注意：如果需要更清洁的沉淀物，可以重复加入 9mL 2%福尔马林及步骤 2 到步骤 4 的操作步骤。

安全预防措施

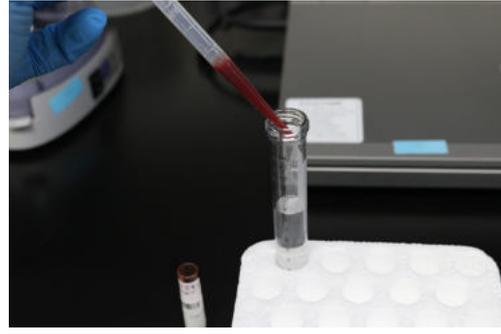
穿着实验服，配戴一次性手套

清洁步骤

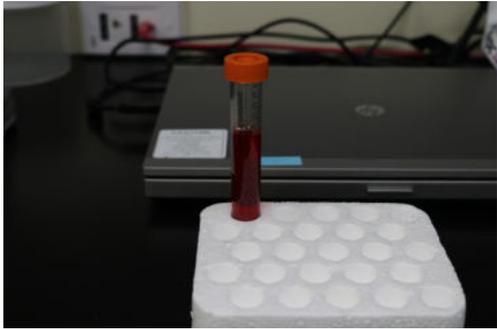
将所有载玻片和盖玻片放入锐器盒中



第一步.



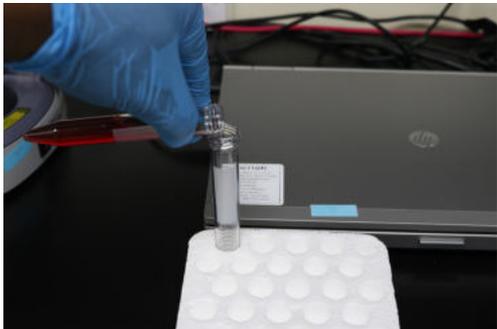
第二步



第三步



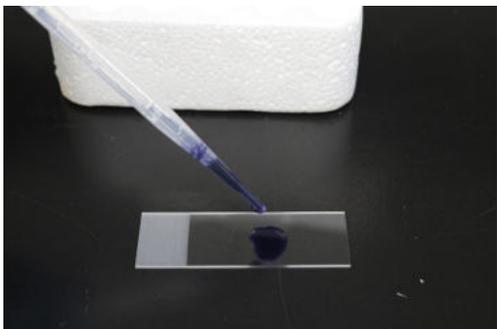
第四步



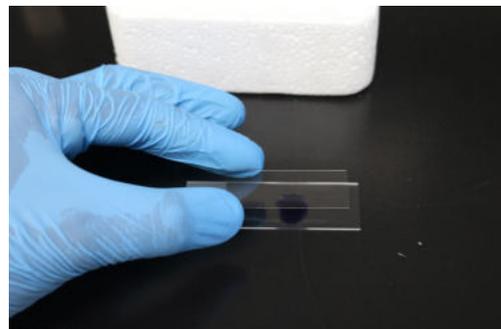
第五步



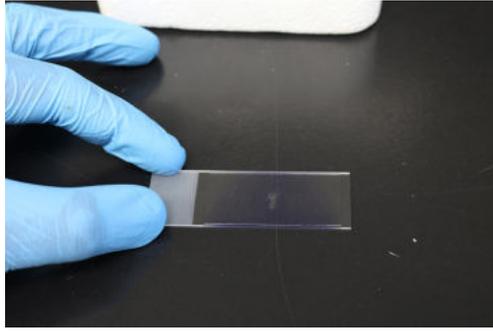
第六步



第七步



第八步



第九步

图片由罗斯大学兽医学院的 Ian Branford 和 Shadrach Hobson-Tyson 提供

标准操作步骤 7：微量血细胞比容法检测微丝蚴

微量血细胞比容法是一种广泛应用于血液学领域的方法。在恶丝虫属 (*Dirofilaria* spp.) 和棘唇线虫属 (*Acanthocheilonema* spp.) 微丝蚴阳性的血液样本中，这些幼虫通常会集中在微量血细胞比容管的血沉棕黄层。在显微镜下，可以观察到这些幼虫仍然保持活性并能够活动。

试剂/材料

- 微量血细胞比容管

步骤

1. 采集全血，加入抗凝剂（EDTA、肝素等），注入到微量血细胞比容管中（长 75mm，直径 1mm）。
2. 在微量血细胞比容离心机中以 13,000-15,000 g 离心 4-5min
3. 轻轻取出微量血细胞比容管，将其水平放置在显微镜下，并将焦距聚焦于位于血浆和红细胞层之间的血沉棕黄层。
4. 在光学显微镜下，使用 20 倍物镜（放大 200 倍）仔细观察微丝蚴的运动情况。

结果

由于微丝蚴不断运动以及缺乏染色以显示可视化的鉴别特征，因此无法将微丝蚴鉴别到种属水平。在显微镜光源加热的情况下，微丝蚴会呈现出从血沉棕黄层向血浆移动的趋势。

防护措施

穿着实验服并佩戴一次性手套

清理程序

将所有载玻片和盖玻片放入锐器盒中

标准程序操作 8：血涂片（包括耳尖毛细血管血涂片）

薄血涂片适用于检测外周血中的细胞内和细胞外寄生虫，例如血液原虫（巴贝斯虫属（*Babesia*）、泰勒虫属（*Theileria*）、兰格利亚原虫属（*Rangelia*）、胞簇虫属（*Cytauxzoon*）、肝簇虫属（*Hepatozoon*）、锥虫属（*Trypanosoma*））等。厚涂片则具有更高的浓缩程度和灵敏度，但后续仍需使用薄涂片进行寄生虫形态学的鉴定。薄涂片和厚涂片也可用于微丝蚴病的检测，但与改良 Knott's 试验相比，其敏感性较低。

大多数情况下，需要进行两次或多次涂片以提高该方法的灵敏度

除了按照本标准程序操作，还可参考以下建议：

新鲜毛细血管血液涂片. <https://youtu.be/EkYXXHSILYk>; and
<https://www.youtube.com/shorts/yfUN89hsZqs>

EDTA 血液涂片. <https://youtube.com/shorts/j-KNiVnIAi0?feature=share>

试剂/材料

- 姬姆萨染色剂：制备成 1: 20 溶液（例如，2ml 姬姆萨原液和 40mL 蒸馏水或缓冲液），放置不超过 2 天
- 染色缸
- 在实验开始之前，确保载玻片表面干净无尘。在操作过程中，握住载玻片的边缘，并用酒精棉球擦拭载玻片表面，以确保其清洁度。这样的操作可以减少杂质对实验结果的影响，提高实验的准确性

薄血涂片操作步骤

1. 将一小滴新鲜血液（在发生凝血之前）或加入 EDTA 抗凝剂的血液滴加在载玻片一端。
2. 使用另一个载玻片（涂布器）涂布血液样本。
3. 以大约 45 度的角度握住涂布器。
4. 使用涂布器接触血液的远端部分，即离载玻片边缘最远的一侧。
5. 血液沿着涂布器的边缘流动。
6. 沿着载玻片长轴方向轻轻推动涂布器。
7. 注意，是在涂布器后面拉动血液，而不是在涂布器前面推动血液。
8. 将涂布器推至接近载玻片末端。将会形成一个“羽毛状边缘”，即血细胞分离的区域。
 - a. 如果滴入的血量不足，涂片将会较短，无法覆盖整个载玻片，从而影响观察效果
 - b. 如果滴入的血量过多，血细胞将无法形成清晰的羽毛状边缘，影响血细胞分离的效果
9. 风干。
10. 血膜风干后，在无水甲醇中固定 5min 后再次取出风干。
- 11.

厚血涂片操作步骤

1. 在载玻片中央滴一小滴血液。
2. 使用一根棍子或另一个载玻片的角，将血滴以画圆方式涂抹开。
3. 得到的血液涂片直径应约为 1.5cm。
4. 如果将载玻片放于报纸上，很难透过血液看见报纸上的字。
5. 将涂片水平放置并干燥至少 30min，或者干燥数小时。
6. 避免使用甲醇或高温来固定厚涂片。
7. 姬姆萨染色。
8. 如果暂不染色，可以将涂片短暂地浸入水中以溶解红细胞。

耳毛细血管血涂片操作步骤

1. 捏住耳朵，剪去耳廓边缘的毛发。
2. 使用干纱布擦拭毛发、灰尘和皮屑，禁止使用任何液体（如消毒剂），这将阻碍血液小泡的形成。
3. 使用细针（如 25G 或 26G）轻轻刺入耳朵（注意动作要轻柔，避免引起出血）。
4. 挤压针刺部位四周，将毛细血管的血液挤压到皮肤表面，会出现一个血液小泡。
5. 将载玻片放置在血泡上，然后按照之前对薄血涂片操作的描述进行血涂片制备。

染色和观察（所有类型的血涂片）

1. 如果没有 Diff-Quik 等商品化染色试剂盒，可以采用以下方法进行染色：
2. 将载玻片放入 1: 20 的姬姆萨溶液中浸泡 20-30min。
3. 使用自来水或浸入一瓶自来水中轻轻清洗，注意不要过度清洗以免褪色。
4. 将载玻片垂直放置，等待风干。
5. 首先在光学显微镜 10 倍物镜（100 倍放大率）下进行观察，当需要寻找细胞内原虫和鉴别微丝蚴时，可以增加放大倍数。

结果

寄生虫的细胞质将呈现浅蓝色，而细胞核则被染成深红色

关于各种血液原虫的图像，参考犬和猫体内寄生虫指南

如果在血涂片中发现微丝蚴，应进行 Knott's 试验以帮助鉴别

注意与干燥或染色相关的人工制品

防护措施

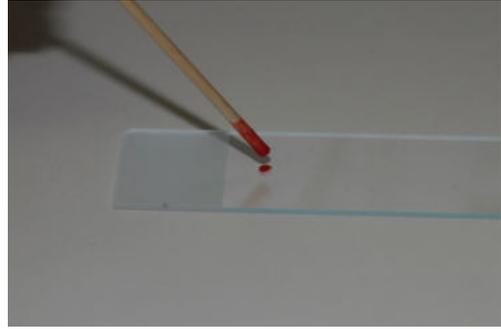
穿着实验服并佩戴一次性手套

清理步骤

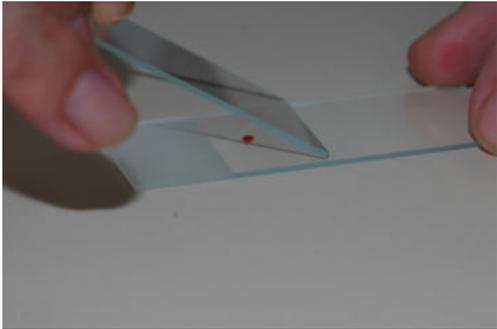
将所有载玻片和盖玻片放入锐器盒中。



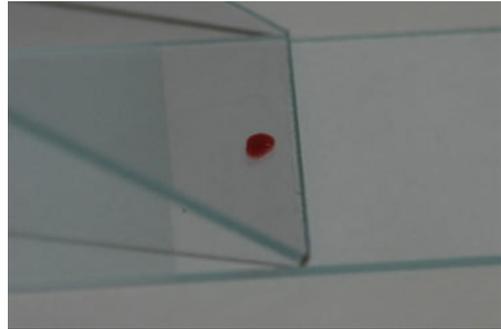
第 1 步



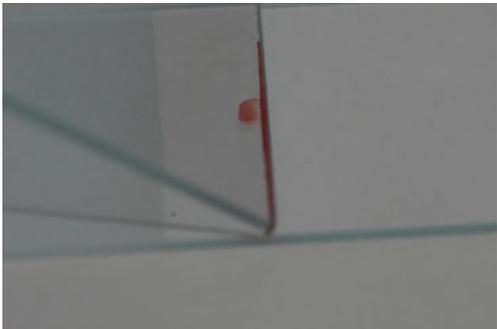
第 1 步



第 2 步



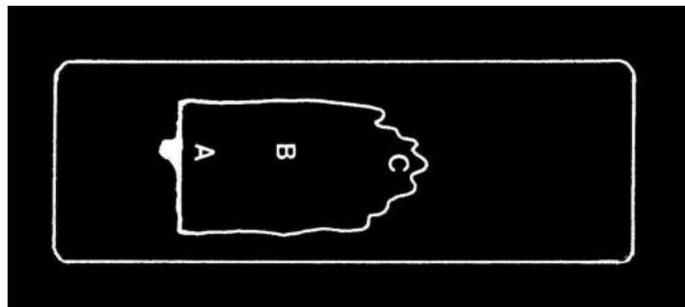
第 3 步



第 4-7 步



第 8 步



第 8 步 羽毛状边缘在 C 区域

标准操作程序 9：血沉棕黄层涂片

血沉棕黄层是血液中富含白细胞和血小板的部分，它含有 10 到 20 倍浓缩的白细胞。加入抗凝剂的血液在离心后出现血沉棕黄层。该层表现为一层棕黄色薄层（因此得名），约占总血量的 1%，在离心管中位于血浆（上）和红细胞（下）之间。在寄生虫学中，血沉棕黄层涂片法是一种比标准全血涂片更灵敏的方法，可在显微镜下检测白细胞中的某些寄生虫和其他病原体，如利什曼原虫（*Leishmania*）、肝簇虫（*Hepatozoon*）、无浆体（*Anaplasma*）或埃立克体（*Ehrlichia*）。此外，血沉棕黄层可能含有比全血还高浓度的微丝蚴和/或锥虫属原虫（*Trypanosoma spp*）的锥鞭毛体。同时，血沉棕黄层部分也可用于 DNA 提取，随后用 PCR 对同一种寄生虫进行分子检测。

试剂/材料

- EDTA 抗凝管
- 移液管
- 血细胞比容管或玻璃毛细管
- 姬姆萨染色剂
- 载玻片

步骤

1. 采集全血样本加入抗凝剂（EDTA、肝素等），在室温条件下 200g 离心 10min。
2. 将离心管从离心机中轻轻取出，放入试管架中。
3. 用细移液管吸取一小滴血沉棕黄层部分的血液并滴加于载玻片上。
4. 使用另一个载玻片（涂布器）来涂布血液。
5. 握住涂布器保持大约 45° 的角度。
6. 使用涂布器接触液滴的远侧部分，即离载玻片边缘最远的一侧。
7. 血沉棕黄层部分的血液沿着涂布器的边缘流动。
8. 沿着载玻片的长轴方向推动涂布器。
9. 注意，是在涂布器后面拉动血液，而不是在涂布器前面推动血液。
10. 将涂布器推至接近载玻片末端，将会形成一个“羽毛状边缘”，即血细胞分离的区域。
 - a. 如果血液滴入量过少，制备出的涂片将相对较短，这可能导致羽毛状边缘无法形成或不明显
 - b. 如果血液滴入量过多，羽毛状边缘可能会被掩盖或无法清晰显示
11. 风干。
12. 涂片风干后，置于无水甲醇中固定 5min 后再次风干。
13. 将载玻片放入 1: 20 的姬姆萨溶液中浸泡 20-30min。
14. 用自来水或浸入一瓶自来水中轻轻清洗，注意不要过度清洗以免褪色。
15. 将载玻片垂直放置，等待风干。
16. 首先使用光学显微镜 10 倍物镜（100 倍放大率）观察载玻片，当需要寻找细胞内的原虫及鉴别微丝蚴时，可以增加放大倍数。
- 17.

结果

对于各种寄生虫的图像，请参考犬和猫体内寄生虫指南

防护措施

穿着实验服并佩戴一次性手套

清理程序

将所有的载玻片和盖玻片放到锐器盒中

皮肤分析标准操作程序

标准操作程序 10：胶带/醋酸酯条片法

胶带法可用于肛周区域的绦虫卵收集，同时也可应用于各类常见发病部位的毛螨收集。

试剂/材料

- 载玻片和盖玻片
- 镊子
- 透明胶带

步骤

1. 使用干净的透明胶带或醋酸酯条片
2. 胶带或者醋酸酯条片长度大约 2.5cm
3. 放在毛发或者皮肤表面
4. 朝着毛发的方向拉
5. 放在载玻片上（粘性面朝下）
6. 使用 4 倍或者 10 倍物镜（放大 40 或 100 倍）观察螨和虱，使用 10 倍或者 40 倍物镜（放大 100 或 400 倍）观察绦虫卵

结果

除了能观察到各种毛螨和虱外，还可以观察到虱卵和螨虫卵

防护措施

穿着实验服并佩戴一次性手套

完成后彻底洗手

清理程序

将所有的一次性设备丢在临时垃圾箱或者锐器盒中

标准操作程序 11：毛发显微图像分析/拔毛法

毛发显微图像分析是对拔下的毛发的细致观察。这种方法主要用于检查毛螨，也可用于虱的检测。在遇到皮肤刮屑困难（敏感区域）的情况下，可以使用拔毛法进行皮肤螨虫采集，尽管与皮肤刮屑法相比，其灵敏性可能有所降低。拔取的毛发可以放置在载玻片上，用复合显微镜进行观察，或者放在培养皿中，利用解剖（立体）显微镜进行观察。此外，剃除皮肤刮取部位毛发时获得的毛发也可以用拔毛法进行观察。

试剂/材料

- 载玻片和盖玻片
- 镊子
- 矿物油/甘油/石蜡油

步骤

1. 使用镊子顺着毛发生长的方向拔取毛发。
2. 尽可能地在拔毛前和拔毛时挤压皮肤。
3. 为了提高检测灵敏度，建议至少拔取 20 根，甚至 40 根或更多的毛发。
4. 若采用复合显微镜进行观察，将拔取的毛发放置在载玻片上，并滴加一滴矿物油/甘油/石蜡油，随后盖上盖玻片进行观察
5. 若使用立体显微镜进行观察，将拔取的毛发放置在培养皿上，并滴加一滴矿物油/甘油/石蜡油以增加观察的清晰度。
6. 放大 4 倍至 100 倍观察。

防护措施

穿着实验服并佩戴一次性手套

完成后彻底清洗

清理程序

将所有的一次性设备丢在临时垃圾箱或者锐器盒中

标准操作程序 12：皮肤刮屑用于螨虫检查和胶带法

深层皮肤刮屑可在无毛区域刮取以收集蠕形螨（*Demodex spp.*），或在疑似丘疹周围刮取约 1-2cm 以收集疥螨（*Sarcoptes*）和背肛螨（*Notoedres*）。浅层皮肤刮屑可用于检测毛螨。

应在寄生偏好部位和/或病变区域附近进行皮肤刮屑。通常会进行多次刮屑以供检查。

如果检查室没有显微镜，或在家庭访问期间进行皮肤刮屑，可以使用胶带保存皮肤刮屑样本。样本应在 3 天内检查是否存在螨虫和虫卵。

试剂/材料

- 载玻片和盖玻片
- 钝刀片
- 矿物油/甘油/石蜡油
- 透明胶带

步骤

1. 在必要时，轻轻地刮取皮肤碎屑样本收集区域。
2. 收集毛发进行观察（参考标准操作程序 12：毛发显微图像分析）。
3. 在钝刀片上滴一滴矿物油/甘油/石蜡油。
4. 在寻找蠕形螨的过程中，应在刮取之前使用拇指和食指轻轻夹住皮肤。
5. 使用钝手术刀刀片，以纵向和横向的方向轻轻刮擦皮肤，直至出现轻微的毛细血管出血。
6. 将所收集的材料放置在载玻片上，立即观察。
7. 如果无法在短时间内进行观察，可以将收集在刀片上的样本粘于胶带的粘性面上。然后，将胶带的粘性面朝下放置在载玻片上，以便稍后进行观察和分析。
8. 可选步骤：将一条长约 2.5cm 的胶带牢牢贴在刮擦处，并迅速撕下。然后，将胶带的粘性面朝下放置在载玻片上，以便进行后续的观察和分析。
9. 在低倍镜（4 倍物镜（放大 40 倍）和 10 倍物镜（放大 100 倍））下观察。

防护措施

穿着实验服并佩戴一次性手套

完成后彻底清洗

清理程序

将所有的一次性设备丢在临时垃圾箱或者锐器盒中

标准操作程序 13：皮肤活检

该方法通过对沉积物的观察来检测和鉴定皮肤中丝虫的微丝蚴，包括盘尾丝虫（*Onchocerca*），如狼盘尾尾丝虫（*Onchocerca lupi*）和尾丝虫属（*Cercopithifilaria*），如贝氏尾丝虫（*Cercopithifilaria bairdii*）、一未定种尾丝虫 *Cercopithifilaria* sp. II 及格氏尾丝虫（*Cercopithifilaria grassii*）。

试剂/材料

- 活检穿孔器（直径 4mm）或一次性手术刀
- 盐溶液（0.9% NaCl）
- 固定薄膜的橡胶垫圈
- 玻璃载玻片
- 盖玻片（10×10mm）
- 光学显微学
- 亚甲基蓝（1%）

步骤

1. 使用一次性手术刀（约 0.5 × 0.5 × 0.6cm）或活检穿孔器（直径 4mm）收集皮肤样本。
2. 将样品在 37°C 的生理盐水中浸泡 10min，或在室温（约 20°C）下浸泡 3h。
3. 取出皮肤样本。
4. 置于离心机中 650g 离心 10min。
5. 取两滴沉淀物滴加于载玻片上。
6. 滴加一滴亚甲基蓝（1%）。
7. 在光学显微镜下使用低倍镜（10 倍物镜；放大 100 倍）进行检测，使用高倍镜（40 倍物镜；400 倍放大）观察以确认虫种。
8. 根据微丝蚴的形态特征，对其进行鉴定。

防护措施

穿着实验服并佩戴一次性手套

清理程序

将所有载玻片和盖玻片放入锐器盒中

其他程序

标准操作程序 14: 耳螨观察

耳螨 (*Otodectes*) 在肉眼和显微镜下均可观察到。通常, 通过耳镜检查即可发现耳螨的存在, 尽管这种方法相较于用棉签收集碎屑进行检测的灵敏度略低。感染耳螨的犬和猫可能会继发细菌感染, 引发疼痛, 因此检查前可能需要为其佩戴口套或给与镇痛药。

试剂/材料

- 耳镜
- 棉签
- 矿物油/石蜡油
- 载玻片和盖玻片

步骤 (耳镜)

1. 提起耳廓。
2. 轻轻地将窥镜放入耳道的开口处。
3. 使用耳镜观察时, 慢慢地将窥镜沿耳道垂直向下移动。
4. 观察耳垢和碎屑, 耳螨 (*Otodectes*) 表现为在深色耳垢上移动的白点。
5. 如果耳朵里充满较多的碎屑, 使用较宽的耳窥镜将更有利于观察。
6. 碎屑和耳垢会充满窥器的尖端。这些碎屑和耳垢可以使用棉签按照以下步骤进行检查。

步骤 (棉签)

1. 使用棉签轻轻涂上矿物油/石蜡油, 清理双耳上的黑色蜡状碎屑。
2. 通过观察棉签上是否有可移动的物体, 可以初步判断是否存在耳螨。
3. 滴 2-3 滴矿物油/石蜡油在载玻片上。
4. 将棉签粘取的从耳朵内收集的碎屑与载玻片上的油混合
5. 清除掉大块碎屑。
6. 盖上盖玻片。
7. 在低倍镜 (4 倍和 10 倍物镜 (40 倍和 100 倍放大倍数)) 下观察。

结果

在这两种方法中, 螨的活动可以被直接观察到, 而显微镜观察则证实了检测结果并提高了方法的灵敏度。

防护措施

穿着实验服并佩戴一次性手套。完成后彻底清洗。

清理程序

将所有一次性设备丢入临时垃圾箱

标准操作程序 15：脓疱型蠕形螨病

当犬患有脓疱型蠕形螨病时，皮肤刮屑检查的结果通常为阴性。在这种情况下，该方法有利于恢复和感染的确认。

试剂/材料

- 载玻片和盖玻片

步骤

1. 挤压一两个脓包
2. 将载玻片紧贴皮肤表面以收集所需样本
3. 将盖玻片盖在载玻片上
4. 在低倍镜（10 倍物镜，100 倍放大）和高倍镜（40 倍物镜，400 倍放大）下观察样本。

防护措施

穿着实验服并佩戴一次性手套

完成后彻底清洗

清理程序

将所有的一次性设备丢在临时垃圾箱或者锐器盒中

标准操作程序 16：尿液沉淀

尿液沉淀可用于鉴别肾膨结线虫（*Dioctophyme renale*）的虫卵和皱壁毛细线虫（*Pearsonema plica* (syn. *Capillaria plica*)）。

试剂/材料

- 载玻片和盖玻片
- 10-15mL 离心管
- 卢戈氏碘液
- 乙酸

步骤

1. 使用一次性塑料杯收集尿样。
2. 将样品加入 10 或 15mL 离心管中，并以 300 rpm 离心 10min，弃去上清液。
3. 取 1-2 滴沉淀物滴加于载玻片上，盖上盖玻片。
4. 样本可以与一滴卢戈氏碘液混合以增加对比度。
5. 如果样品被红细胞覆盖，可以加入 2-3 滴醋酸，以溶解红细胞。
6. 在低倍显微镜（10 倍物镜，100 倍放大）和高倍镜（40 倍物镜，400 倍放大）下观察样本。

防护措施

- 穿着实验服并佩戴一次性手套
- 完成后彻底清洗

清理程序

- 视情况将所有的一次性设备丢在临时垃圾箱或者锐器盒中

鉴定参考

粪便中的虫卵和卵囊

- [1] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. Veterinary Clinical Parasitology 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.
- [2] Eggs found in Faecal Floats <https://shire.science.uq.edu.au/parasites/helminths/nematodes/faecal-floats.php>
- [3] www.parasite.org.au/para-site/contents/toc.html

粪便中的幼虫

- [1] Di Cesare A, Traversa D. 2014. Canine angiostrongylosis: recent advances in diagnosis, prevention, and treatment. Vet Med (Auckl). 5:181-192. doi:10.2147/VMRR.S53641
- [2] Greve JH. 1985. Identifying nematode larvae in feces of dogs and cats. Iowa State University Veterinarian. 47(2): 98-101. http://lib.dr.iastate.edu/iowastate_veterinarian/vol47/iss2/4
- [3] McGarry JW, Morgan ER. 2009. Identification of first-stage larvae of Metastrongyles from dogs. Vet Rec 165(9):258-261.
- [4] Traversa D, Di Cesare A, Conboy G. 2010. Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. Parasit Vectors. 3:62. doi:10.1186/1756-3305-3-62

血液中微丝蚴

- [1] Companion Animal Parasite Council Guidelines. <https://capcvet.org/guidelines/heartworm/>
- [2] Magnis J, Lorentz S, Guardone L, et al. 2013. Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. Parasit Vectors. 6:48. doi:10.1186/1756-3305-6-48
- [3] Parasitological Diagnosis in Cats, Dogs and Equines. ESCCAP Guideline 04 First Edition – November 2022. [www.esccap.org/uploads/docs/hgqo8xak_1335_ESCCAP_GL4_v2_1p.pdf page 35](http://www.esccap.org/uploads/docs/hgqo8xak_1335_ESCCAP_GL4_v2_1p.pdf_page_35)

皮肤中微丝蚴

- [1] Mutafchiev Y, Dantas-Torres F, Giannelli A, Abramo., Papadopoulos E, Cardoso L, Cortes H, Otranto D. 2013. Redescription of *Onchocerca lupi* (Spirurida: Onchocercidae) with histopathological observations. Parasit Vectors 6:309.
- [2] Otranto D, Varcasia A, Solinas C, Scala A, Brianti E, Dantas-Torres F, Annoscia G, Martin C, Mutafchiev Y, Bain O. 2013. Redescription of *Cercopithifilaria baina* Almeida & Vicente, 1984 (Spirurida, Onchocercidae) from a dog in Sardinia, Italy. Parasit Vectors. 6:132. doi:10.1186/1756-3305-6-132.
- [3] Otranto D, Brianti E, Dantas-Torres F, Miró G, Latrofa MS, Mutafchiev Y, Bain O. 2013. Species diversity of dermal microfilariae of the genus *Cercopithifilaria* infesting dogs in the Mediterranean region. Parasitology 140(1):99-108. doi:10.1017/S0031182012001357.

蜱虫鉴定

- [1] Barker SC, Walker AR. 2014. Ticks of Australia: The Species That Infest Domestic Animals and Humans. Magnolia Press, Auckland. <http://www.alanwalker.com/guidebooks/ticks/>
- [2] Bristol University Tick ID. Key to Genera. <http://www.bristoluniversitytickid.uk/page/Key+to+Genera/6/#.Y7NaNHbMI2w>

- [3] Madder M, Horak I, Stoltz H. Ticks of veterinary importance and Tick Identification. https://www.afrivip.org/sites/default/files/Ticks_identification/ticks_importance/ and https://www.afrivip.org/sites/default/files/Ticks_identification/index/ (Africa). See also www.afrivip.org/sites/default/files/07_identification_vetimportance.pdf
- [4] Szabó MP, Pinter A, Labruna MB. 2013. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front Cell Infect Microbiol.* 3:27. doi:10.3389/fcimb.2013.00027
- [5] TickEncounter Identification Guide. <https://web.uri.edu/tickencounter/fieldguide/id-guide/>
- [6] Walker AR, Bouattour A, Camicas J-L, et al. 2003. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. University of Edinburgh. <http://www.alanrwalker.com/guidebooks/ticks/>
- [7] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. *Veterinary Clinical Parasitology* 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.

螨、虱和蚤的鉴定

- [1] Common parasites of veterinary importance, Mite identification key. <https://shire.science.uq.edu.au/parasites/arachnids/mites/mites-identification.php>
- [2] Dantas-Torres F, Otranto D. 2014. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box [published correction appears in *Parasit Vectors.* 2016;9(1):298]. *Parasit Vectors.* 7:22.doi:10.1186/1756-3305-7-22
- [3] Flea Identification. www.cdc.gov/nceh/ehs/docs/pictorial_keys/fleas.pdf
- [4] Common parasites of veterinary importance. Key to Flea Species of Veterinary Importance in Australia. <https://shire.science.uq.edu.au/parasites/insects/fleas/fleas-key.php>

参考方法和视频

- [1] Parasitological Diagnosis in Cats, Dogs and Equines. ESCCAP Guideline 04 First Edition – November 2022. Free and available electronically. www.esccap.org/uploads/docs/hgqo8xak_1335_ESCCAP_GL4_v2_1p.pdf
- [2] The RVC/FAO Guide to Veterinary Diagnostic Parasitology. <https://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Faeces/Purpose.htm>
- [3] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. Veterinary Clinical Parasitology 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.
- [4] Preparing and measuring the S.G. of a flotation solution. <https://youtu.be/Skx7JDUL6IE>
- [5] Fresh capillary blood smear. <https://youtu.be/EkYXXHSILYk> and <https://www.youtube.com/shorts/yfUN89hsZqs>
- [6] EDTA blood smear. <https://youtube.com/shorts/j-KNiVnIAi0?feature=share>
- [7] Collecting blood from the ear tip. <https://www.youtube.com/shorts/8KCQ1gqX9Hk>