

ICS 65.020.30
B 44



中华人民共和国国家标准

GB/T 18448.3—2001
代替 GB/T 14926.35—1994

实验动物 兔脑原虫检测方法

Laboratory animal—Method for examination of *Encephalitozoon cuniculi*

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

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。

实验动物 兔脑原虫检测方法

代替 GB/T 14926.35—1994

Laboratory animal—Method for examination of *Encephalitozoon cuniculi*

1 范围

本标准规定了兔脑原虫的取样、染色检测方法及其结果判定,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 μm~2.5 μm,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