

## 前 言

旋毛虫病(trichinellosis in swine)是一种危害很大的人兽共患寄生虫病。它不仅给畜牧业和肉品工业造成严重的经济损失,而且对人类健康也构成严重威胁。

本病病原为旋毛虫,是英国学者 James Pames Paget 1835 年首次于伦敦一尸体中发现,同年 Owen 定名为:trichinella spiralis 简称旋毛虫。后来证实,由此虫引起的旋毛虫病是一种世界分布的人兽共患寄生虫病,可感染人和 150 多种哺乳动物,目前全世界都有本病的发生。

本病的诊断方法主要有两类。一是病原学诊断,包括直接采集肌肉进行目检、压片镜检和集样消化;另一类是血清学诊断,包括皮内反应、补体结合反应、对流免疫电泳、胶乳凝集试验、间接荧光抗体、皂土絮凝试验、间接血凝试验、环蚴沉淀试验、酶联免疫吸附试验(ELISA)等。

为了保证《中华人民共和国动物防疫法》的实施,结合世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]编写的该病检疫方法,特制定本标准。

本标准规定旋毛虫压片镜检、集样消化两种方法。主要用于感染旋毛虫猪的定性。上述方法具有操作简便,快速,根据不同情况可作为产地、屠宰加工和流行病学调查以及进出口猪和猪肉的检疫。

本标准的附录 A、附录 B 都是标准的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物检疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中国人民解放军农牧大学。

本标准主要起草人:徐克成、阎玉河、郑明光、周志江。

# 中华人民共和国国家标准

## 猪旋毛虫病诊断技术

GB/T 18642—2002

Diagnostic techniques for trichinella spiralis in swine

### 1 范围

本标准规定了旋毛虫压片镜检、集样消化等诊断技术。

本标准适用于产地检疫、屠宰加工、流行病学调查和进出口猪及猪肉的检疫。

### 2 压片镜检法

#### 2.1 实验材料

2.1.1 甘油透明液、盐酸溶液、美蓝溶液〔见附录 A(标准的附录)〕。

2.1.2 仪器：显微镜。

#### 2.2 操作方法

##### 2.2.1 新鲜肉检验

###### 2.2.1.1 采样

自胴体两侧的横膈膜肌脚部各采样一块，记为一份肉样，其质量不少于 50 g~100 g，与胴体编成相同号码。如果是部分胴体，可从肋间肌、腰肌、咬肌、舌肌等处采样。

###### 2.2.1.2 目检

撕去膈肌的肌膜，将膈肌肉缠在检验者左手食指第二指节上，使肌纤维垂直于手指伸展方向，再将左手握成半握拳式，借助于拇指的第一节和中指的第二节将肉块固定在食指上面，随即使左手掌心转向检验者，右手拇指拨动肌纤维，在充足的光线下，仔细视检肉样的表面有无针尖大半透明乳白色或灰白色隆起的小点。检完一面后再将膈肌翻转，用同样方法检验膈肌的另一面。凡发现上述小点可怀疑为虫体。

###### 2.2.1.3 压片

可按下述方法制备压片：

a) 放置夹压玻片：将旋毛虫夹压玻片放在检验台的边沿，靠近检验者；

b) 剪取小肉样：用剪刀顺肌纤维方向，按随机采样的要求，自肉上剪取燕麦粒大小的肉样 24 粒，使肉粒均匀地在玻片上排成一排（或用载玻片，每片 12 粒）；

c) 压片：将另一夹压片重迭在放有肉粒的夹压片上，并旋动螺丝，使肉粒压成薄片。

###### 2.2.1.4 镜检

将制好的压片放在低倍显微镜下，从压片一端的边沿开始观察，直到另一端为止。

###### 2.2.1.5 判定标准

镜检判定标准如下：

a) 没有形成包囊期的旋毛虫：在肌纤维之间呈直杆状或逐渐蜷曲状态，或虫体被挤于压出的肌浆中。

b) 包囊形成期的旋毛虫：在淡蔷薇色背景上，可看到发光透明的圆形或椭圆形物，囊中央是蜷曲的虫体。成熟的包囊位于相邻肌细胞所形成的梭形肌腔内。

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2002-02-19 批准

2002-05-01 实施

c) 钙化的旋毛虫:在包囊内可见数量不等、浓淡不均的黑色钙化物,或可见到模糊不清的虫体,此时启开压玻片,向肉片稍加10%的盐酸溶液,待1 min~2 min后,再行观察。

d) 机化的旋毛虫:此时压玻片启开平放桌上,滴加数滴甘油透明剂于肉片上,待肉片变得透明时,再覆盖夹压玻片,置低倍镜下观察,虫体被肉芽组织包围、变大,形成纺锤形、椭圆形或圆形的肉芽肿。被包围的虫体结构完整或破碎,乃至完全消失。

### 2.2.2 冻肉的检验

#### 2.2.2.1 冻肉的检验同2.2.1。

#### 2.2.2.2 冻肉的染色方法如下:

a) 压片:同2.2.1.3。

b) 染色:在肉片上滴加1~2滴美蓝或盐酸水溶液,浸渍1 min,盖上夹压玻片。

c) 镜检:美蓝染色法:肌纤维呈淡青色,脂肪组织不着染或周围具淡蔷薇色。旋毛虫包囊呈淡紫色、蔷薇色或蓝色。虫体完全不着染。盐酸透明法:肌纤维呈淡灰色且透明,包囊膨大具有明显轮廓,虫体清楚。

## 3 集样消化法

### 3.1 实验材料

3.1.1 消化液:配制方法见附录B(标准的附录)。

3.1.2 器械:80目铜网(网眼直径为±0.18 mm)、漏斗、分液漏斗、凹面皿、组织捣碎机、温度计、加热磁力搅拌器、显微镜(或倒置显微镜)。

### 3.2 操作方法

#### 3.2.1 采样

3.2.1.1 部位:采集胴体横膈肌脚和舌肌。

3.2.1.2 方法:去除脂肪、肌膜或腱膜。

3.2.1.3 数量:每头猪取1个肉样(100 g),再从每个肉样上剪取1 g小样,集中100个小样(个别旋毛虫病高发地区以15~20个小样为一组)进行检验。

#### 3.2.2 绞碎肉样

将100个肉样(重100 g)放入组织捣碎机内以2 000 r/min,捣碎时间30 s~60 s,以无肉眼可见细碎肉块为度。

#### 3.2.3 加温搅拌

将已绞碎的肉样放入置有消化液的烧杯中,肉样与消化液(见附录B)的比例为1:20,置烧杯于加热磁力搅拌器上,启动开关,消化液逐渐被搅成一漩涡,液温控制在40℃~43℃之间,加温搅拌30 min~60 min,以无肉眼可见沉淀物为度。

#### 3.2.4 过滤

取80目的筛子,置于漏斗上。漏斗下再接一分液漏斗,将加温后的消化液徐徐倒入筛子。滤液滤入分液漏斗中,待滤干后,弃去筛子上的残渣。

#### 3.2.5 沉淀

滤液在分液漏斗内沉淀10 min~20 min,旋毛虫逐渐沉到底层,此时轻轻分几次放出底层沉淀物于凹面皿中。

#### 3.2.6 漂洗

沿凹面皿边缘,用带乳头的10 ml吸管徐徐加入37℃温自来水,然后沉淀1 min~2 min,并轻轻沿凹面皿边缘再轻轻多次吸出其中的液体如此反复多次,加入或吸出凹面皿中的液体均以不冲起其沉淀物为度,直至沉淀于凹面皿中心的沉淀物上清透明(或用量筒自然沉淀,反复吸取上清的方法进行漂洗)。

### 3.2.7 镜检

将带有沉淀物的凹面皿放入倒置显微镜或在80~100倍的普通显微镜下调节好光源,将凹面皿左右或来回晃动,镜下捕捉虫体、包囊等,发现虫体时再对这一样品采用分组消化法进一步复检(或压片镜检),直到确定病猪为止。

**附录 A**  
(标准的附录)  
**旋毛虫压片法用溶液配制**

**A1 甘油透明液**

甘油	20 mL
加双蒸水至	100 mL

**A2 盐酸水溶液**

盐酸(HCl)	20 mL
加双蒸水至	100 mL

**A3 美蓝溶液**

饱和美蓝酒精溶液	5 mL
加双蒸水至	100 mL

**附录 B**  
(标准的附录)  
**消化液的配制**

胃蛋白酶(3000 国际单位)	10 g
盐酸(密度 1.19)	10 mL
加蒸馏水至	1 000 mL

加温 40℃ 搅拌溶解, 现用现配。

---