

脾蛭에 관한 研究

〔Ⅲ〕 蟲卵檢査法の 改良

서울大學校 農科大學

張 斗 煥

緒 論

脾蛭症의 診斷은 家畜의 排糞속에서 蟲卵을 檢出하는 方法을 擇하여 오긴 했으나 蟲卵의 크기가 작고 또한 糞內의 雜物과 容易하게 附着되기 때문에 그 檢出率이 좋지 않았다. 따라서 實際 應用에 있어서 그 蟲卵檢査法은 完全히 信賴할수가 없었다.

Volf(1940)는 最初로 脾蛭蟲卵을 浮游法으로서 檢出하려고 試圖했으나 失敗하였으며 Codo(1952)는 脾蛭症의 診斷을 爲하여 antigen의 製造에 着眼하여 皮下接種을 實施하기도 했으나 成績이 좋지 않았다.

永田等(1964)은 脾蛭蟲卵의 檢査에 있어서 渡邊氏法과 時計점시法을 使用하였다고 했으며 單一方法으로는 確實性을 얻기 어려워서 補充하는 方法을 併用하여 왔다고 한다.

國內에서 金等(1964)은 韓牛의 脾蛭感染率을 肉眼의 檢査에 依하여 32.5%의 成績을 얻었으나, 蟲卵檢査法(方法은 不確實)에 依한 成績은 14.7%에 不過하였다고 한다. 또한 金等(1968)은 濟州道의 韓牛 1000頭를 檢査하여 肉眼의 檢査成績이 89.6%이었으나 塗抹法은 41.2%, 沈澱法은 27.6%, 浮游法은 3.7% 등의 成績을 얻었다고 報告하였다.

本 研究은 過去의 脾蛭蟲卵의 檢査成績에 있어서 그 効能이 낮은 理由를 밝히고 새로히 檢査方法을 修正, 改良 및 補充하려고 試圖하였다.

檢査材料 및 方法

屠殺場에서 脾蛭感染을 確認한 소의 直腸糞을 採取하여서 蟲卵檢査法の 効能을 判定하는 材料로서 使用하였다. 또한 脾臟에서 採集된 蟲體들은 生理的食鹽水에 保存하였다가 24時間 後에 거즈로 濾過하여 蟲卵

을 集卵하였으며 그것을 各方法의 効能實驗에 使用하였고 脾蛭感染된 飼養이 必要할 境遇에 人爲的으로 飼養에 混合하는 境遇에도 그 蟲卵을 使用하였다.

脾蛭의 蟲卵檢査法을 改良 或은 修正하기 爲하여 屠殺牛의 脾蛭感染程度(感染強度)를 確認하고 그 直腸糞을 採集하여 檢査하므로써 檢査法の 効能을 確立하였다.

改良된 檢査法을 實際로 應用하기 爲하여 脾蛭이 感染된 緬羊과 소의 排糞을 一箇月半동안 每日 檢査하였다.

本研究에서 檢討한 過去의 여러가지 蟲卵檢査方法들은 다음 Table 1 과 같다.

脾蛭蟲卵의 沈澱法으로서 Telemann ether hydrochloric acid method와 그 改良된 方法인 formalin ether technique(M.G.L.法)를 併合시켰다.

浮游法으로서의 위의 沈澱法의 過程에서 最後의 에펠을 除外하고 沈澱物에 浮游液(比重 1,290~1,350)을 添加하여 蟲卵의 產出(yield)과 沈澱量과의 關係로서 効能을 判定하였다.

檢 査 成 績

A. 浮游法에 依한 成績

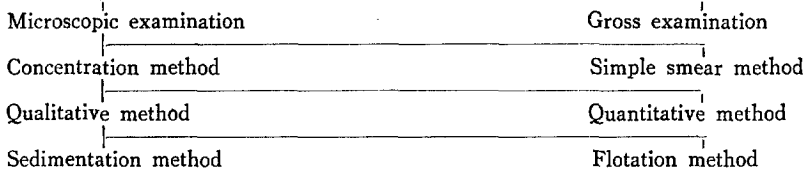
脾蛭蟲卵을 浮游하기 爲하여 雪糖溶液(比重 1,320), glycerin(比重 1,300), 硫酸亞鉛(比重 1,290~1,360), 硝酸나트륨(比重 1,290~1,360)을 實驗에 使用하였으나 앞의 雪糖과 glycerin은 粘度가 높았으므로 뒤의 二種類만을 마이신병에 比重에 따라서 分注하고 蟲卵約 100個程度를 스포이드로 添加하여 진탕한 後에, 10分, 20分, 30分 間隔으로 浮游되는 그 數를 解剖顯微鏡으로 헤아렸던 바 Table 2와 같은 成績을 얻었다.

脾蛭蟲卵의 浮游狀況은 檢査液의 比重에 正比例하고

(本論文의 一部要旨은 西紀 1969年 大韓寄生蟲學會 第3回春季學會에서 發表하였음)

Table 1. Methods of fecal examination reported up to date

COLLECTION OF FECES



- I. Simple sedimentation method (Stile, 1902)
 1. Straining technique
 2. Centrifugation technique
 3. Bass' calcium chloride method(Bass, 1909)
- II. Telemann ether hydrochloric acid method (Telemann, 1908)
 1. Yavita's antiformin-ether technique (McNell, 1913)
 2. de Riva'sacetic ether technique(de Rivas, 1928)
 3. Acid-ether xylene(AEX) technique(Loughlin & Stoll, 1946)
 4. Acid-trition-ether technique(Weller & Dammin, 1945)
 5. Sodium sulfate-triton-NE-ether technique(Faust and Ingall, 1946)
 6. Acid-sodium-sulfate-trition-NE-ether technique (AMS. III) (Hunter et al., 1948)
 7. Saline-aerosol-ether-xylene(CEX) technique(Loughlin & Spitz, 1949)
 8. Formalin-ether technique(MGL) (Wykoff and Ritchie, 1959)
- III. Water centrifugal method(Faust & Meleney, 1924)
 1. Baroody's modified technique(Baroody & Most, 1946)
 2. Swanson and Hopper's technique(Swanson & Hopper, 1950)
- IV. Merthiolate-iodine-formaldehyde concentration method(Blagg et al., 1955)

- I. Bass' salt solution method(Bass, 1906)
 1. Calcium chloride technique(Bass, 1909)
 2. Kofoid and Barber technique(Barber & Kofoid, 1918)
 3. Willis' brine flotation(Wilis, 1920)
 4. Fülleborn technique(Fülleborn, 1924)
- II. Sugar flotation method(Sheather, 1923)
- III. Zinc sulfate centrifugal method(Faust et al., 1938)
 1. Cupric nitrate technique (Garcia & Pesigan, 1940)
 2. Summer's modified technique(Summer, 1942)
 3. Baroody's modified technique(Baroody, 1946)
 4. Watson's modified technique(Watson, 1947)

있으나 보다 重要한 要件은 液體의 粘度(viscosity)였다.

蟲體에서 集卵하여 얻은 蟲卵도 相互間 附着되어 있는지 또는 어떤 物質에 싸여 있었으며 쇠똥속의 蟲卵도 여러雜物에 附着되어 있었으므로 이 點을 解決하기 爲하여 50%鹽酸으로 洗滌할 必要가 있었다.

쇠똥을 50% 鹽酸의 20cc와 混合하여 遠沈한 後에 上澄液을 버리고 再次 蟲卵이 附着되지 않도록 10% formalin 으로 固定하였다. 이것을 遠沈시켜서 formalin

을 버리고 硫酸亞鉛溶液으로 浮游시켰던바 다음과 같은 成績을 얻었다.

B. 沈澱液에 依한 成績

浮游法에서 얻은 結果로서 疥蟬蟲卵의 檢出은 過去의 方法과 같이 沈澱法을 應用해야 함을 暗示받았으며 그 얻은 結果를 基盤으로 다음과 같은 粗法을 Telemann ether hydrchloric acid method로 부터 修正하여 改良하였다.

- 1) 쇠똥을 50%鹽酸과 混各하여 거르르 濾過한다.

Table 2. Number of floated fluke eggs on each specific gravity of zinc sulfate and sodiumnitrate solution for 10, 20, and 30 minutes

Specific gravity	Zinc sulfate			Sodium nitrate		
	10	20	30	10	20	30
1,290	—	—	—	—	—	—
1,300	—	1	1	—	—	2
1,310	1	3	8	—	4	6
1,320	1	11	14	8	12	15
1,330	12	15	23	6	11	7
1,340	16	29	31	2	6	14
1,350	15	19	35	3	5	5
1,360	13	14	18	4	6	6

Table 3. Number of fluke eggs floated (or sedimented) on each specific gravity of zinc sulfate solution (s.g. 1,290~1,350)

Specific gravity Test	1,290	1,300	1,310	1,320	1,330	1,340	1,450
	1	7(12)	0(9)	15(9)	9(12)	16(9)	0(18)
2	3(9)	5(17)	0(16)	10(9)	21(10)	21(5)	0(3)
3	0(26)	6(7)	0(21)	1(18)	9(7)	0(7)	12(13)
4	0(32)	3(13)	7(8)	18(15)	0(0)	0(6)	4(26)
5	3(17)	2(12)	9(11)	18(3)	12(6)	8(8)	13(7)
6	5(9)	8(7)	12(7)	12(4)	24(10)	12(14)	23(11)
7	14(12)	18(23)	18(8)	13(16)	28(7)	0(7)	28(15)
8	0(12)	16(4)	0(10)	15(7)	0(11)	17(14)	0(4)
9	8(22)	0(11)	24(11)	0(13)	8(21)	25(8)	0(8)
10	9(6)	8(21)	12(9)	17(5)	19(4)	30(6)	31(9)
Total	49(160)	71(124)	97(110)	113(102)	137(85)	122(93)	129(101)

- 2) 濾過液을 遠沈하고 上澄液을 버린다.
- 3) 沈澄物에 10% formalin을 加하여 固定한다.
- 4) 에델 1~2ml를 加하고 上下로 强하게 진탕한다.
- 5) 再次 遠沈하여 上層을 分離시키고 沈澱物만 남기고 모두 버린다.
- 6) 沈澱物을 슬라이드글라스에 옮겨 커버글라스를 덮고 檢査한다.

Table 4. Determination of sample size for the modified sedimentation method

Sample size	Group I	Group II	Group III	Group IV	Efficiency
5gm.	40%	50%	30%	50%	42.5%
10gm.	70%	70%	80%	80%	75.0%

가) Sample size의 決定
 檢査에 使用하는 葷의 有義性있는 用量을 決定하기 爲하여 葷 5gm과 10gm을 檢査하여 Table 4와 같은 成績을 얻었다(各 group는 10 個씩의 材料檢査에 依함).
 나) Gauze의 枚數決定
 緋羊의 葷을 濾過하는 거즈의 枚數를 決定하고자 一枚와 二枚를 使用하여 虫卵의 産出을 比較하였다. 거즈를 濾過에 使用할 때에는 물에 적서 (Table 6) 썼고 葷의 用量은 5gm이었다. (Table 5)

다) 感染强度에 따른 虫卵檢出率
 改良한 方法에 依한 膾蛭虫卵의 檢出率을 確認하고자 이미 感染된 膾蛭의 數를 肉眼의 檢査한 個體의 直腸葷을 寄生한 虫體의 數(1~5 마리, 6~15 마리, 16~30 마리, 31~50 마리)에 依據하여 區分採取하였다. 이 採取한 Sample, 20例를 檢査하여서 다음과 같은 成績을 얻었다. (Table 5.)

Table 6은 寄生한 膾蛭이 5마리가 되는 葷은 虫卵의 檢出率이 75%이었으며 6마리 以上の 虫體가 寄

Table 5. Number of fluke eggs detected with modified sedimentation method through one and two layers of gauze

No. of sample Gauze		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Average
I	One Layer	45	27	16	17	57	7	36	5	2	5	21.7
	Two Layers	38	39	9	13	15	17	10	26	27	10	20.4
II	One Layer	37	19	10	8	7	11	14	9	17	12	14.4
	Two Layers	19	9	16	13	40	20	8	4	4	13	14.6

Table 6. Total positive results obtained by fecal examination of cattle from which the pancreatic flukes were detected as follows

Examination	1~5 worms	6~15 worms	16~30 worms	31~50 worms
The first 10 cases	8	10	10	10
The second 10 cases	7	10	9	10
Efficiency	75%	100%	95%	100%

生하고 있는 쇠똥은 75~100%의 虫卵檢出率이었음을 表示하였다.

C. 豚絛蟲卵의 檢査를 爲한 方法

豚絛蟲卵의 檢査에 浮游法과 沈澱法을 應用하여 最終的으로 다음과 같은 改良된 沈澱法을 考案하였다.

- 1) 쇠똥 10gm(양똥은 5gm)을 컵에 받아서 20~25ml의 50%鹽酸과 混合한다.
- 2) 한장의 거즈로 濾過한다.

- 3) 컵을 5ml의 50%鹽酸으로 씻어서 또 붓는다.
 - 4) 濾過液을 2,300 rpm.으로 2分間 遠沈시킨다.
 - 5) 上澄液을 단 한번으로 버린다.
 - 6) 沈澱物에 1~2ml의 10% Formalin를 넣고 粉碎한 後에 10ml程度 더 넣어서 5分間 固定한다.
 - 7) 에델 2~3ml를 附加한다.
 - 8) 管口를 엄지손가락으로 막고 세차게 上下로 진탕시킨다.
 - 9) 진탕액을 2,300 rpm.으로 2分間 遠沈시킨다.
 - 10) 上部에 形成된 雜物層을 막대기로 管壁에서 分離시킨다.
 - 11) 沈澱物만 남기고 위의 三層을 모두 버린다.
 - 12) 沈澱物을 粉碎하여 슬라이드글라스에 옮겨 커버글라스를 덮고 檢査한다.
- 위에 記述한 여러 조작을 圖示하면 Fig. 1과 같다.

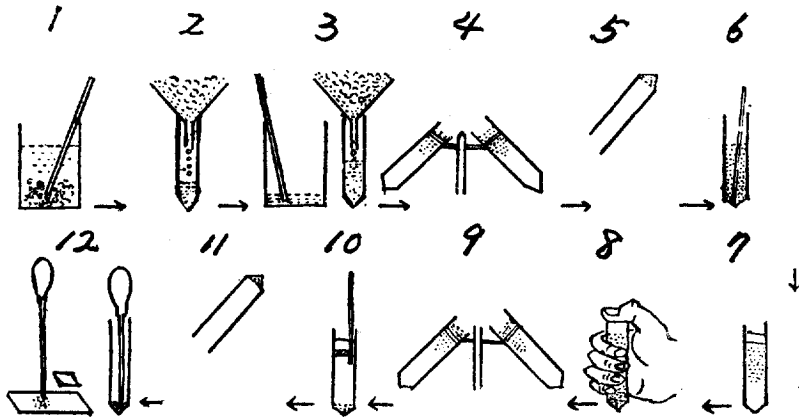


Fig. 1. Procedures of. H.F.E. sedimentation method for the ova of *Eurytrema pancreaticum*

D. H.F.E.沈澱法(Hydrochloric acid-formalin-ether sedimentation method)의 使用成績

豚絛蟲感染된 緬羊과 소의 똥을 每日 받아서 改良된 方

法으로 檢査하였다.

緬羊의 똥을 濾過하는데 一枚의 거즈로 充分하였으나 쇠똥은 二枚의 거즈를 使用하는 편이 結果가 좋았

Table 7. Efficiency of H.F.E. sedimentation method for detection of the pancreatic fluke eggs

10/11~10/30	11	12	14	15	16	17	18	21	22	23	25	26	28	29	30	For 15 days
Sheep	6	1	25	0	—	2	11	5	33	6	5	2	3	8	12	14/15(93%)
Cattle	3	3	8	8	10	1	8	5	3	4	2	—	3	3	5	14/14(100%)
11/1~11/10	1	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	18	19	For 15 days
Sheep	8	45	20	10	2	12	9	6	18	14	3	19	27	8	21	15/15(100%)
Cattle	4	3	4	4	2	6	0	2	4	1	3	2	—	1	4	13/14(93%)

다. 에델의 量은 沈澱物의 多少에 따라서 增減시키는

것이 必要하였다.

Table 7은 10月과 11月에 H.F.E.沈澱法으로 虫卵을 檢査한 成績으로서 93~100%의 效能을 提示하여 주고 있다.

H.F.E.沈澱法으로 檢査하는 過程에서 所要되는 時間은 鹽酸處理와 濾過에 7分間, 2回의 遠心分離에 5分間, formalin 固定에 5分間, 全體로서 1件當 19分間의 處理時間이 所要되었다.

實際로 檢査에 있어서 4件씩 2組로 8件을 處理할 境遇에 1時間半이 所要됨으로 1件의 處理過程에 所要되는 時間은 12分에 不過하였다.

考 察

脾蛭虫卵의 檢査法으로서 使用했던 過去의 方法은 모두가 不完全하다는 것을 永田諸代⁽⁸⁾가 最近에 脾蛭虫卵의 檢査에 두가지 方法을 併用하였다는 事實로도 알 수 있다.

脾蛭虫卵의 比重은 約 1.290—1.350 間에 位置하므로 檢査液으로서 硫酸亞鉛과 硝酸나트륨이 適用되기는 했으나 粘度가 높아서 實用性이 적었다. Table 2에서 浮游液의 比重 1,320 以上이면 充分하지만 硫酸亞鉛의 浮游液에 뜨는 蟲卵數에 比하여 沈澱하는 蟲卵數가 相當한 比率를 차지하고 있다는 事實(Table 3)은 이 方法이 脾蛭虫卵의 檢査에 不適當함을 시사하고 있는 것이다.

飽和食鹽水는 脾蛭虫卵의 比重에 未達하며 雪糖溶液은 比重이 높지만 粘度가 硫酸亞鉛溶液보다 높아서 使用할 수가 없었다.

浮游法으로 脾蛭의 蟲卵을 檢査할 境遇에 蟲卵에 附着된 雜物로 因하여 比重에 差異가 생겼다. 따라서 이 附着物을 除去하기 爲하여 Telemann 氏가 적용했던 50% 鹽酸을 利用하여 優秀한 成果를 얻었으며 M.G.L.法⁽⁴⁾과 併用하게 되었다.

草食獸의 排糞量은 많고 또한 纖維素가 大量이므로 徹底히 濾過하는 同時에 에델의 使用으로 雜物을 充分

히 除去하도록 할 必要가 있었다.

沈澱法의 改良은 浮游法에서 얻은 暗示와 Telemann 法을 基幹으로 삼았으며 formalin 固定과 sample size의 決定(Table 4)이 重要한 초점이 되었다.

脾蛭感染된 家畜의 糞(sample) 그 자체도 때로는 蟲卵의 含有가 全無한 境遇가 있다. 特히 蟲體數가 1~5마리의 感染時에 그런 個體들의 檢査에 있어서 25%의 誤差를 正常的으로 是認해야 하는 事實을 Table 6은 말해 주고 있다. 濃厚하게 感染된 脾蛭症에 있어서도 7%의 誤差가 造成되는 事實을 2個月間 檢査한 同一個體의 成績이 시사하고 있다(Table 7).

修正改良한 H.F.E.沈澱法의 效能은 脾蛭의 感染強度에 따른 그 個體의 直腸糞을 檢査하여 75~100%의 效能(Table 6)을 얻었으며 野外實驗으로 93%以上의 效能(Table 7)을 얻은 事實은 實際檢査에 있어서 最低의 效能인 75%檢出率을 確保하였다는 主張이 된다.

結 論

脾蛭虫卵의 檢査에 使用하여 왔던 過去의 方法들을 檢討하고 檢査하여 보았으나 그 成績이 極히 좋지 않아서 새로히 H.F.E.沈澱法(hydrochloric acid-formalin-ether sedimentation method)를 考察하였다.

H.F.E.沈澱法의 效能은 感染된 蟲卵數가 5마리 以下일때는 75%, 6마리 以上인 境遇에는 93%以上의 檢出率을 얻었다.

H.F.E.沈澱法의 處理方法은 다음과 같다.

- 1) sample(쇠똥 10gm, 양똥 5gm)을 컵에 받아서 20 ml의 50%鹽酸과 混合한다.
- 2) 1~2枚의 거즈로 濾過한다.
- 3) 컵을 5ml의 50%鹽酸으로 씻어서 또 濾過한다.
- 4) 濾過液을 2,300 rpm. 으로 2分間 遠心分離한다.
- 5) 上澄液을 단 한번으로 버린다.
- 6) 沈澱物에 10% formalin을 1~2ml 넣고 粉碎한 後

- 에 10ml 정도 더 넣어서 5分間 固定한다.
- 7) 에델 2~3ml 를 附加한다.
 - 8) 管口를 엄지손가락으로 막고 세차게 上下로 진탕한다.
 - 9) 진탕한 液體를 2,300 rpm. 으로 2分間 遠心分離한다.
 - 10) 上部에 形成된 雜物層을 막대기로 管壁에서 分離시킨다.
 - 11) 沈澱物만 남기고 위의 三層을 모두 버린다.
 - 12) 沈澱物을 粉碎하여 슬라이드글라스에 옮겨 커버글라스를 덮고 檢査한다.

REFERENCES

1. Benbrook, E.A. & M.W. Sloss(1955). Veterinary clinical parasitology. The Iowa State College Press. Ames, Iowa, U.S.A. pp. 206.
2. Córdo, V. (1952). Tese cutáneo para diagnóstico da euritrematose em bovinos. Revista Ceres. Minas Gerais.9(50), 132~138; (Helminthological Abstracts Vol. 21, Part 5, 1952).
3. Faust, E.C. & P.F. Russell(1958). Graig and Faust's clinical parasitology. Sixth edition. Lea & Febiger. Philadelphia. pp. 945~953.
4. 張斗煥(1962). 糞에 排泄되는 寄生蟲의 蟲卵과 原蟲의 囊子를 檢査하는데 使用하는 浮游法과 沈澱法의 比較. 獸醫界, Vol. (5), No. 4, Vol. (6), No. 1-2.
5. 河野猪三郎, 福吉成典(1966). 脾蛭蟲卵의 脾管內所在의 二 意義에 對하여. 鹿兒島大學農學部, 學術報告, No. 17, pp. 197~206.
6. 金三基, 李炳都, 林永文(1964). 韓牛의 內部寄生蟲分布調查. 農事試驗研究報告, 第7輯 第3卷 pp. 69~74.
7. 金壽厚, 金哲秀, 李芳俊(1968). 濟州道소의 內部寄生蟲調查. 大韓獸醫學會誌, Vol. (8), No. 2, pp. 92~97.
8. 永田良胤, 塚本法生, 芦澤廣三, 野坂大, 河野猪三郎, 坂垣博(1964). 畜牛脾蛭症에 關한 研究. II 九州에 있어서의 分布에 對하여. 日本獸醫學雜誌, Vol. (26), 學會號, pp. 488~490.
9. 盧忍圭(1964). Formalin-ether 沈澱 및 硫酸亞鉛浮游併合法에 依한 數種 吸蟲卵 檢出成績의 比較 檢討. 寄生蟲學雜誌, Vol. (2), No. 1 : 52~54.
10. 中村良一(1964). 肝蛭症診療法. 養賢堂. 東京 pp. 75~80.
11. Mapes, C.R. (1951). Studies on the biology of Dicrocoelium dentriticum (Rudolphi, 1819) Looss, 1899. (Trematodai Dicrocoeliidae) including its relation to the intermediate host, Cionella lubrica (Müller), I. A study of Dicrocoelium dentriticum and Dicrocoelium infection. The Cornell Veterinarian, 41: 383~432.
12. Stile, C.W.(1902). The significance of the recent american case of hookworm disease (Uncinariasis or Ancylostomiasis) in man. 18th ann. Rpt., Bur. An. Indust., U.S.D.A., pp. 183-219.
13. Ritchie, L.S., C. Pan & G.W. Hunter III. (1952). A comparison of the zinc sulfate and the M.G.L. (Formalin-ether) technics. J. parasit. 38 (sec.2):16
14. Volf, Z.V. (1940) Ovoscopic diagnosis of dicrocoeliasis. Nauchno-Issedovatel'skago Veterinarnogo. Trudy kazakhskago Instuta, 3:292-303: (Biological Abstract, 1946)
15. 李長洛, 張斗煥, 李昌業, 禹建錫, 吳文儒(1968). 韓牛의 脾蛭寄生實態調查 및 脾蛭驅蟲劑에 關한 研究. 科學技術處 E 68~102, pp. 54

Studies on the *Eurytrema pancreaticum*

(II) Modified method of fecal examination

Du Hwan Jang D.V.M., M.S.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Seoul National University

The techniques which have been used for the fecal examination of ruminant infected with the pancreatic flukes, *Eurytrema pancreaticum*, were reviewed in their efficiency to detect the ova.

One of modified fecal examination: H.F.E. (hydrochloric acid-formalin-ether) sedimentation method

was devised in this study.

Efficiency in the detecting ability of the fluke eggs with H.F.E. sedimentation method was determined by a series of repeat tests. Among 20 head of cattle known to harbor 1-5 adult worms of the pancreatic fluke, 75% of the infected cattle were detected, and among 60 head of cattle known to harbor more than 6 adult worms, 95% of the infected cattle were detected with H.F.E. sedimentation method.

The procedures of the H.F.E. sedimentation method are as follows;

- 1) Take the sample 5-10 gm., emulsify thoroughly with 20 ml. of 50% hydrochloric acid in a cup.
- 2) Strain this mixture through one or two layers of wet surgical gauze into 15 ml. centrifuge tube.
- 3) Washing the cup with 5 ml. of 50% hydrochloric acid and strain again.
- 4) Centrifuge at 2,300 rpm. for 2 minutes.
- 5) Pour off the supernatant fluid.
- 6) After the sediment mixed with 10% formalin, stand for 5 minutes.
- 7) Add 2-3 ml. of ether, shake vigorously up and down, after the top of the tube covered with thumb.
- 8) Centrifuge at 2,300 rpm. for 2 minutes.
- 9) Loosen the fecal plug in the tube by ringing with an applicator stick.
- 10) Quickly, but carefully, pour off all, but the bottom layer of sediment.
- 11) Thoroughly mix the sediment, pour on a slide (or pick up it with a pipett), mount with a cover glass.
- 12) Examine carefully.