

ICS 11.220

CCS B 41

团 体 标 准

T/CVMA 124—2023

牦牛螨虫病诊断技术

Diagnostic techniques for yak manges

2023-7-14 发布

2023-7-14 实施

中国兽医协会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

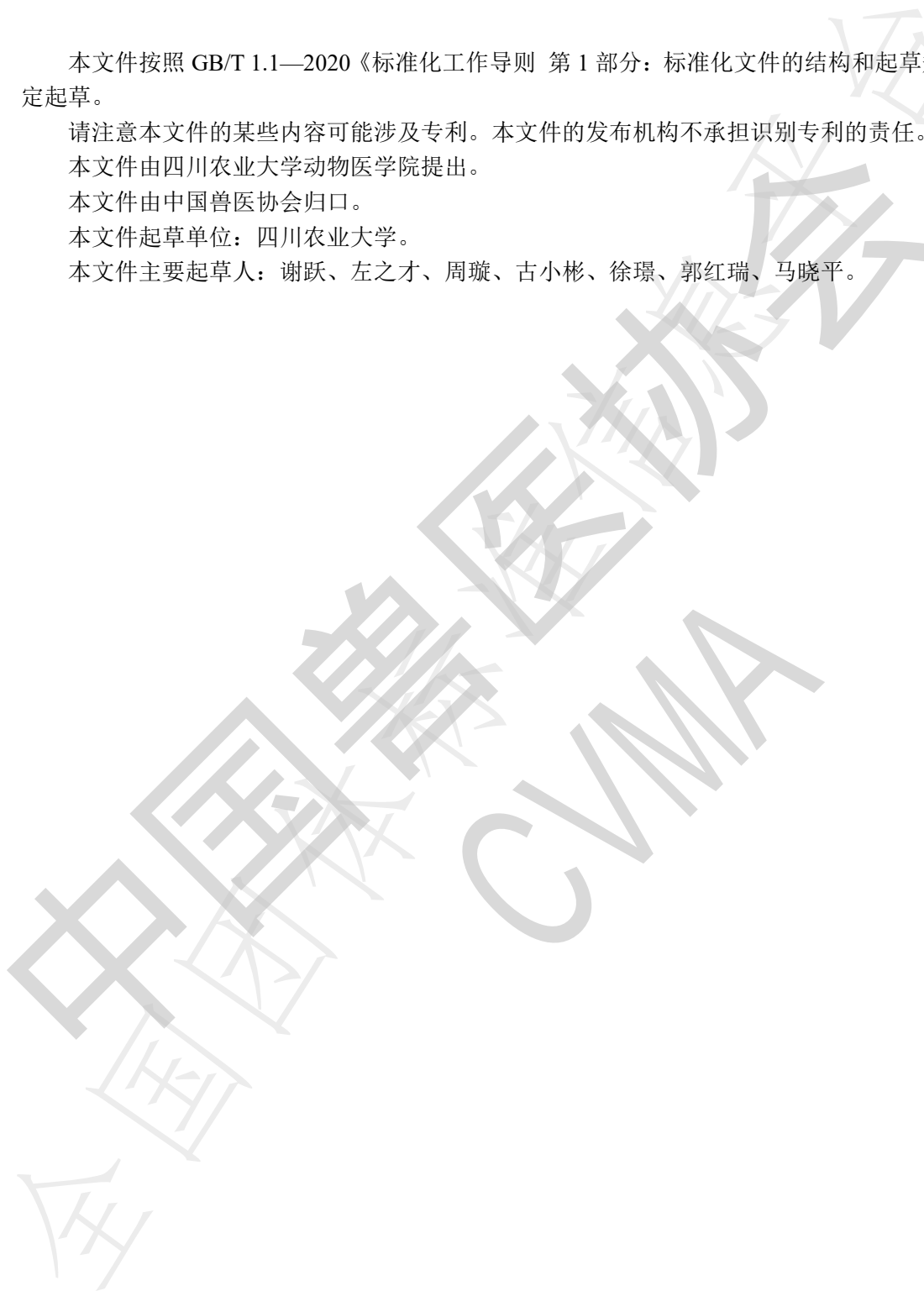
请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由四川农业大学动物医学院提出。

本文件由中国兽医协会归口。

本文件起草单位：四川农业大学。

本文件主要起草人：谢跃、左之才、周璇、古小彬、徐璟、郭红瑞、马晓平。



牦牛螨虫病诊断技术

1 范围

本文件规定了牦牛螨虫病临床检查、样品采集与病原鉴定等诊断技术要求。
本文件适用于牦牛螨虫病的检疫和诊断。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 1470 羊螨病（痒螨/疥螨）诊断技术

3 术语和定义

NY/T 1470确定的下列术语和定义适用于本文件。

3.1

疥螨 *Sarcoptes scabiei* var. *bovis*

寄生于动物皮肤表皮层内的外寄生虫，成虫虫体较小，乳白色，呈近圆形或椭圆形，背面隆起似半球形，腹面扁平，可引起牦牛的疥螨病。

注：牦牛疥螨的形态见附录 A 中图 A.1~图 A.3。

3.2

疥螨病 sarcoptic mange

由疥螨寄生于牦牛皮肤表皮内引起相应临床症状的外寄生虫病。

3.3

痒螨 *Psoroptes ovis* var. *bovis*

寄生于动物皮肤表面的外寄生虫，成虫虫体较疥螨大，肉眼可见，呈卵圆形，体表细纹，足长，可引起牦牛的痒螨病。

注：牦牛痒螨的形态见图A.4~图A.6。

3.4

痒螨病 psoroptic mange

由痒螨寄生于牦牛皮肤表面引起相应临床症状的外寄生虫病。

3.5

牛足螨 *Chorioptes bovis*

寄生于动物皮肤表面的外寄生虫，成虫虫体较疥螨大，肉眼可见，呈卵圆形，体表细纹，足长，可引起牦牛的足螨病。

注：牛足螨的形态见图A.7~图A.9。

3.6

足螨病 chorioptic mange

由牛足螨寄生于牦牛皮肤表面引起相应临床症状的外寄生虫病。

4 流行病学

牦牛螨虫病分布广泛，其流行具有一定的季节性和传染性，一般在秋末开始，冬季出现流行高峰，次年春末进入夏天，牦牛换毛、皮温升高时开始逐渐好转；犏牦牛、成年体弱母牛的发病率往往较高。根据我国牦牛主产区螨虫病流行病学调查结果显示，青海牦牛疥螨病的感染率为7.7%~10.0%，牦牛痒螨病的感染率为9.2%；西藏牦牛痒螨病的感染率为12.6%；四川牦牛疥螨病的感染率为5.0%~11.7%，牦牛痒螨病的感染率为15.0%~30.0%，牦牛足螨病的感染率为4.1%~6.9%；新疆牦牛疥螨病的感染率为25.0%。

5 临床检查

5.1 临床特征

5.1.1 患病部位

疥螨先由头、颈、体侧开始，随后蔓延至肩、背、全身；痒螨多出现在尾根、背部和肩胛部；牛足螨主要寄生于尾根、肛门周围以及蹄部。

5.1.2 剧痒

表现为皮肤瘙痒，病牛常以舔、咬或倚物摩擦患部。

5.1.3 皮肤病变

疥螨寄生于皮肤表皮层内，受损皮肤出现丘疹、水疱、脓疱和索状隆起，水疱和脓疱破溃后结成灰白色干痂；严重时，皮肤增厚，形成皱褶或皲裂。痒螨寄生于皮肤表面，受损皮肤发红，出现淡黄色的结痂，部分病例出现鳞状皮屑，皮肤逐渐增厚，失去弹性。牛足螨寄生于皮肤表面，受损皮肤初期出现浅红色或浅黄色针头大至粟粒的结节，随后形成水疱和脓疱，水疱和脓疱破溃后形成浅黄色脂肪样痂皮；严重时，皮肤出现皱褶，变硬。

5.1.4 脱毛

初期少量掉毛；中、后期被毛成片脱落，裸露出病变皮肤。

5.2 初步判定

5.2.1 在临床牦牛出现症状，如剧痒、皮肤损伤、发炎、溃烂、增厚、脱毛、结痂和消瘦等症状时可做出初步判定。

5.2.2 当发现疑似螨虫感染牦牛时，应隔离观察或采取病料送实验室进一步病原学鉴定。

6 病原学鉴定

6.1 设备、器械与试剂

6.1.1 设备与器械

恒温箱（4℃~60℃）、显微镜（10×）、酒精灯、凸刃小刀、棉拭子、自封袋、平皿等。

6.1.2 试剂

30%甘油或液体石蜡、生理盐水。

6.2 显微镜检查

6.2.1 病料采集

6.2.1.1 保定临床疑似感染牛只，剪掉患部与健康部交界处被毛，生理盐水清洗，擦干，用凸刃小刀倾斜45°刮取裸露部皮屑，直到皮肤微出血。采集病料前，可在皮肤或凸刃小刀上滴1滴甘油或液体石蜡，有助于螨虫的采集。

6.2.1.2 收集刮取的病料，迅速转移到自封袋，密封后送往实验室待检。

6.2.2 检查方法

6.2.2.1 直接检查法

取适量病料置于平皿中，37℃恒温箱作用15min~30min，取出平皿直接进行镜检。

6.2.2.2 温水检查法

将病料浸入40℃~45℃生理盐水中，恒温箱内静置1h~2h，在温热水的作用下，螨虫将由皮屑爬出，聚集成团而沉入水底。将浸过病料的液体倒出，沉渣倾入平皿，进行镜检。

6.2.2.3 沉淀检查法

将病料放入10%氢氧化钠溶液并浸泡过夜或加热煮5min左右，待其溶液自然沉淀15min，取沉淀物镜检。

6.2.2.4 漂浮检查法

将6.2.2.3中沉淀物转入试管中，再加入60%硫代硫酸钠溶液，试管口加盖玻片，静置5min~10min后，取盖玻片镜检。

6.3 结果判定

根据6.2.2以及附录B的分子生物学检查结果，发现有螨虫虫体（卵）或虫体DNA为阳性结果（参考附录A和附录C），未发现螨虫虫体（卵）或虫体DNA为阴性结果。四种检查方法只要一种方法鉴定为阳性，则判定为阳性结果。

附录 A
(资料性)
螨虫的形态示意图

牦牛螨虫的形态示意图见图 A.1~图 A.9。



图 A.1 疥螨（成螨）背面观



图 A.2 疥螨（成年雌螨）腹面观



图 A.3 疥螨（成年雄螨）腹面观



图 A.4 交配状态的痒螨



图 A.5 痒螨（成年雌螨）背面观



图 A.6 痒螨（成年雄螨）腹面观



图 A.7 牛足螨（成螨）背面观



图 A.8 牛足螨（成年雌螨）腹面观

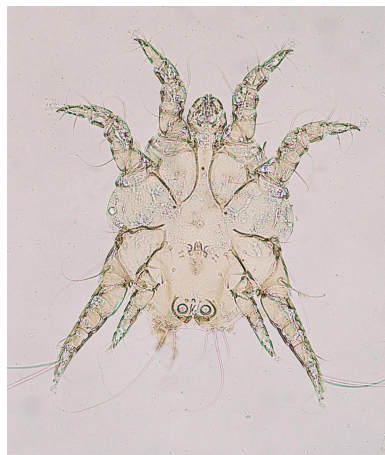


图 A.9 牛足螨（成年雄螨）腹面观

附录 B
(规范性)
牦牛疥螨分子生物学检查

B.1 方法

采用聚合酶链式反应(PCR)技术,以线粒体 *cox1* 基因为靶基因,对螨虫特异性 DNA 片段进行常规 PCR 检测。

B.2 操作

B.2.1 DNA 的提取

根据市售的微量基因组 DNA 提取试剂盒说明书,提取痂皮或牦牛螨虫虫体 DNA,备用。

B.2.2 PCR 扩增

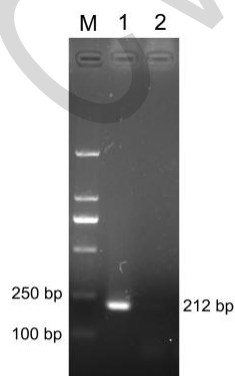
扩增总体积为50 μ L,包含PCR Mixture 25 μ L,待检样品DNA模板1 μ L,上、下游引物各1 μ L(10pmol/ μ L;上游引物序列5'-GTGTGGAAGTGGTAGAGG-3',下游引物序列5'-CAGATCAAGCAAAAAGAGTTAAG-3'),灭菌蒸馏水加至50 μ L。同时设置牦牛疥螨DNA为阳性对照,设置灭菌蒸馏水为阴性对照。PCR扩增条件:94 $^{\circ}$ C预变性3min;94 $^{\circ}$ C变性30s,54 $^{\circ}$ C复性20s,72 $^{\circ}$ C延伸20s,35个循环;72 $^{\circ}$ C延伸8min;8 $^{\circ}$ C储存10min。产物预期大小为212bp。

B.2.3 结果判定

取5 μ L PCR产物(包括待检样品、阳性对照、阴性对照)及5 μ L DNA标准Marker,加入1.8%琼脂糖凝胶板的孔内(含Goldview核酸染料),经5V/cm电泳,电泳20min,于紫外凝胶成像仪或凝胶成像系统中观察结果。

实验结果成立条件:当阳性对照出现212bp扩增条带,空白对照未出现目的条带。

在实验结果成立的情况下,待检样品出现预期大小(212bp)条带即为阳性(见图B.1)。



标引序号说明:

M——DL2000 标准分子量 (TakaRa);

1——标准阳性扩增结果;

2——阴性对照。

图 B.1 PCR 方法标准阳性扩增结果

若需要进一步确认检测结果，将电泳检测呈阳性的PCR剩余产物送测序公司进行序列测定，疥螨cox1基因参考序列（212bp）如下：

GTGTGGAAGTGGTAGAGGAACTGGCTGAACTATTTATCCTCCTTTATCTAGAATCACTTATCATTCA
AATATGTCTGTAGATTTTACAATTGTAAGATTACATATTGCTGGAATTTCTTCTATTTTAAGTTCTATC
AATTTTATTGTAAGTATTTATAATATAAAAATAAAAAGGAATAAGATGATCAAAGTAACTCTTTTGC
TTGATCTG



附录 C
(资料性)
螨虫的形态特征

C.1 疥螨

雌雄异体，虫体近圆形或椭圆形，较小，背面隆起似半球形，乳白，大小为 $200\mu\text{m}\sim 500\mu\text{m}$ ，整个虫体分为假头和躯体两个部分（见图A.1）。口器短，基部有一对粗短的须肢和一对螯肢。第4对足几乎全部被遮于腹下。躯体后半部有几对杆状刚毛和长鬃。腹面扁平，光滑，仅有少数刚毛和4对足。足短粗而圆，分5节，呈圆锥形。前两对足与后两对足之间的距离较大，足的基部有角质内突。雌螨第1、2对足上有吸盘，第3、4对足上各有一根长刚毛（见图A.2）。雄螨第1、2、4对足上有吸盘，第3对足上仅有一根长刚毛（见图A.3）。表皮有皱纹，背面中部有三角形鳞状突及棒状短刺，肛门位于躯体末端。雄螨无生殖吸盘，体末端亦不呈凸缘。

C.2 痒螨

雌雄异体，虫体个体较疥螨大，呈长圆形，大小为 $(500\mu\text{m}\sim 900\mu\text{m}) \times (200\mu\text{m}\sim 520\mu\text{m})$ ，虫体可分为假头和躯体两部分（见图A.4）。假头位于虫体前端，其基部背面后方无粗短垂直刚毛。刺吸式口器较长，呈圆锥形。躯体背面表皮有细皱纹；虫体透明的淡褐色角皮上有稀疏的刚毛和细皱纹。肛门位于躯体末端。足较长，特别是前两对足较后两对足粗大。雌螨：第1、2、4对足上有吸盘，第3对足上各有两根长刚毛。躯体腹面前部有一个宽阔的生殖孔，后端有纵裂的阴道；躯体末端为肛门（见图A.5）。雄螨：第1、2、3对足上有吸盘，吸盘位于分三节的柄上，第4对足特别短，无刚毛和吸盘。躯体末端有两个大结节，上有长刚毛数根；腹面后部有两个吸盘；生殖器居于第4基节之间。雄螨有性吸盘和尾突（见图A.6）。

C.3 牛足螨

雌雄异体，虫体形态与痒螨相似，呈卵圆形，体长 $300\mu\text{m}\sim 500\mu\text{m}$ ，整个虫体分为假头和躯体两个部分（见图A.7）。假头由背面的1对螯肢、1对须肢和1个口下板组成。口器较短，呈锥形；虫体体表有细纹，足长，跗节吸盘的柄短而不分节。雌螨4对足，第1、2、4对足上有吸盘，第3对足上有刚毛（见图A.8）。雄螨4对足，第1、2、3、4对足上均有吸盘，第4对足极短，从背面不能被看见（见图A.9）。生殖孔位于第3、4对足之间。体末端有2个结节，结节的前方腹面有1对环状性吸盘，性吸盘上有刚毛；肛门位于虫体末端。

C.4 疥螨和牛足螨的区别要点

疥螨和牛足螨的区别要点见表C.1。

表 C.1 疥螨和牛足螨类的区别要点

类别	足的特点	
	雌	雄
疥螨	第1、2对足有长柄不分节的吸盘	第1、2、4对足有长柄不分节的吸盘
痒螨	第1、2、4对足有长柄不分节的吸盘	第1、2、3对足有长柄不分节的吸盘
牛足螨	第1、2、4对足有短柄不分节的吸盘	第1、2、3、4对足有短柄不分节的吸盘

参考文献

- [1] 孔繁瑶. 家畜寄生虫学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2010.
 - [2] 雷萌桐, 蔡进忠, 李春花, 等. 我国牦牛体外寄生虫感染概况[J]. 中国兽医杂志, 2016, 52(08):68-70.
 - [3] 贾小勇, 杨光友, 赵小平, 等. 水牛痒螨和兔痒螨的形态学观察[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2006, 13(4):221-225.
 - [4] 古小彬, 杨光友, 赖松家, 等. 基于线粒体细胞色素氧化酶 I(COI)序列的猪和兔四个疥螨分离株的系统发育关系分析[J]. 昆虫学报, 2009, 52(4):465-472.
 - [5] Wang S, Gu XB, Fua Y, et al. Molecular taxonomic relationships of *Psoroptes* and *Chorioptes* mites from China based on COI and 18S rDNA gene sequence[J]. Veterinary Parasitology, 2012, 184: 392-397.
 - [6] Gu XB, Yang GY. A study on the genetic relationship of mites in the genus *Sarcoptes* (Acari: Sarcoptidae) in China[J]. International Journal of Acarology, 2008, 34(2): 183-190.
 - [7] Wong S, Poon R, Chau S, et al. Development of conventional and real-time quantitative PCR assays for diagnosis and monitoring of scabies[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2015, 53(7):2095-102.
 - [8] Fraser TA, Martin A, Polkinghorne A, et al. Comparative diagnostics reveals PCR assays on skin scrapings is the most reliable method to detect *Sarcoptes scabiei* infestations[J]. Veterinary Parasitology, 2018, 251:119.
 - [9] Rehbein S, Winter R, Visser M, et al. Chorioptic mange in dairy cattle: treatment with eprinomectin pour-on[J]. Parasitology Research, 2005, 98:21-25.
 - [10] Frase TA, Martin A, Polkinghorne A, et al. Comparative diagnostics reveals PCR assays on skin scrapings is the most reliable method to detect *Sarcoptes scabiei* infestations[J]. Veterinary Parasitology, 2018, 51:119-124.
-