

团 体 标 准

T/CVMA XXXXX—XXXX

反刍动物消化道排泄物蠕虫虫卵诊断技术规范

Diagnosis technical code for the helminth egg in the feces form the digestive of ruminants

征求意见稿

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

中国兽医协会 发布

中国兽医协会
CVMA

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。

本文件由中国兽医协会兽医寄生虫病防治分会提出。

本文件由中国兽医协会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

中国兽医协会
CVMA

反刍动物消化道排泄物蠕虫虫卵诊断技术规范

1 范围

本文件规定了反刍动物消化道排泄物蠕虫虫卵诊断技术规范。

本文件适用于反刍动物消化道排泄物中蠕虫虫卵的诊断技术，包括牛、羊、鹿等反刍动物的排泄物的采集、运输、保存、实验室显微镜检查。

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。

GB/T6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T25169-2022 畜禽粪便监测技术规范

GB/T 36195-2018 畜禽粪便无害化处理技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 消化道排泄物

消化道排泄物 feces

动物饲料由反刍动物消化通过大肠，从肛门以固体、半流体或流体形式排出体外的，未被反刍动物吸收所产生的残渣。

[来源：GB/T41908-2022，有修改]

3.2 蠕虫

蠕虫 helminths

是一类多细胞无脊椎动物，主要包括扁形动物门、线形动物门和棘头动物门的一些类群。主要包括吸虫、绦虫、线虫和棘头虫。它们通常具有柔软的身体，没有骨骼和真正的体腔，主要生活在动物的肠道内，以宿主的营养物质为食。

4 诊断步骤

4.1 消化道排泄物的采集

4.1.1 从反刍动物直肠采集新鲜排泄物或观察动物消化道排泄物排出后立即从饲养区域地面上收集新鲜的排泄物。采集的排泄物应放置在干净的容器内，尽量保持完整，避免受到污染。

4.1.2 一个群体中至少要逐个采集 10 个动物的新鲜排泄物。

4.1.3 每个动物应收集 10-20g 排泄物（最少应有 5g 排泄物）。

4.1.4 采集的排泄物应注明收集时间和日期、动物种类、动物名称或编号、动物主人、饲养方式及其他有关的信息。

4.1.5 采集时应注意排泄物的颜色、粘稠度和是否有蠕虫。应注意排泄物中是否有线虫或绦虫节片。

4.1.6 采集的排泄物应及时进行检查，若不能在4小时内进行检查诊断应进行保存处理。

4.2 消化道排泄物的运输和保存

4.2.1 将采集的新鲜反刍动物消化道排泄物放入封闭容器中，4℃冰箱冷藏，在不超过24 h内进行实验室检查诊断。

4.2.2 需要邮寄的排泄物，应将其保持在低温密闭的厌氧容器内。在不超过24 h-48 h内送达实验室进行检查诊断。

4.2.3 若需保存较长时间，应将排泄物与10%福尔马林按1体积排泄物与3体积福尔马林的比例混合，置于容量为20-30 ml的螺旋盖小瓶中。用胶带密封，并标明相关信息。用内有吸收性材料包裹并放置在一个聚苯乙烯泡沫容器或厚纸板箱中包装运输。

4.3 消化道排泄物检查

4.3.1 肉眼观察

通过肉眼或放大镜对采集的消化道排泄物进行观察。

4.3.1.1 观察排泄物粘稠度：依据所检查动物种类观察排泄物是否成形的、软的、水样的（表明腹泻）或非常硬的（表明便秘）。

4.3.1.2 观察排泄物颜色：观察排泄物颜色是否正常。如若排泄物中脂肪过多，排泄物呈浅灰色，表明肠道吸收不良。

4.3.1.3 观察排泄物是否带血：在新鲜排泄物中，若蠕虫病严重，或/和其他肠道疾病，血液呈现深棕色到黑色和焦油样（黑色的排泄物），或呈现与新鲜血液相关的红色。

4.3.1.4 观察排泄物是否带有黏液：若有与肠道寄生或其他代谢性有关的疾病，新鲜粪便表面会有黏液。

4.3.1.5 观察排泄物是否含蠕虫：绦虫的节片/段、线虫等蠕虫或幼虫可以肉眼观察到。若有应从排泄物中取出，用放大镜或解剖显微镜进行检查。若是用药物驱虫后的排泄物，应注意观察的蠕虫是否是驱出来的蠕虫的成虫或幼虫。若发现类似蠕虫的物质应将其保存在70%的酒精或10%的福尔马林溶液中，以进一步进行形态学诊断检查。

4.3.2 显微镜检查

常用的显微镜物镜放大倍率为4×、10×和40×。一般开始使用10×的物镜进行检查。检查时应按一定的顺序将盖玻片下所有的区域都进行观察。在观察时注意移动微调聚焦旋钮，以帮助能清楚观察蠕虫卵或卵囊。当在低倍镜下观察到蠕虫卵或卵囊时，应使用更高倍物镜进行更仔细的检查。常用的方法有：

4.3.2.1 直接涂片法

取1:1甘油生理盐水溶液或普通水1-2滴滴于载玻片上，镊取绿豆大小的被检排泄物样品与之混匀，将溶液涂成薄膜，透过薄膜能模糊看出书籍上的字，并将大的排泄物残渣拨至一侧，盖上盖玻片显微镜检查。为提高检出率和准确性，每个样本应至少检查十片以上。

4.3.2.2 漂浮法

将少量的新鲜排泄物样品（大约1-2g）加到10 ml的漂浮溶液中，在充分混合后，将悬浮液倒入试管中（或用筛滤去除较大杂质后将滤液倒入试管中），并添加更多的漂浮溶液填充试管顶部至形成凸面。然后将盖玻片盖在液体表面，让试管和盖玻片静置10-15min。然后将盖玻片垂直移开，放在载玻片上，在显微镜下检查。或用离心机，通过离心加速漂浮溶液使虫卵漂浮（离心力在400-650g，离心3min）。

线虫和绦虫的虫卵应在比重为1.10 g/ml-1.20g/ml的溶液中漂浮，如氯化钠（NaCl或食盐）、硫酸镁（MgSO₄）或比重为1.27g/ml的糖（食用沙糖或蔗糖）溶液；吸虫应在比重为1.30-1.35g/ml的溶液中漂浮，或用如饱和氯化锌（ZnCl₂）或硫酸锌（ZnSO₄）溶液或用比重约为1.4g/ml的饱和硫代硫酸钠溶液（Na₂S₂O₃）。储存的漂浮溶液用前应检查比重，并迅速检查含有卵或幼虫的溶液，以免发生变形。

4.3.2.3 沉淀法

取排泄物样品2g，加足量清水（100ml以上），搅拌均匀，将排泄物通过粗棉布或铜筛过滤，滤液收集于三角烧瓶或烧杯中，静置沉淀20-40min，倾去上层液，保留沉渣，再加水混匀，再沉淀，如此反复操作，直到上层液体澄清后，倒去上清，吸取沉渣，采用上述直接涂片法检查沉渣。或用离心机，通过离心加速沉淀，离心后取沉渣进行检查。此法常用于吸虫虫卵检查。

4.3.2.4 锦纶筛兜集卵法

取排泄物样品5-10g，加水搅匀，先通过260 μm（40目）或250 μm（60目）的铜丝筛过滤；滤液再通过58 μm（260目）锦纶筛兜过滤，并在锦纶筛兜中继续加水冲洗，直到过滤液清澈透明为止；然后挑取筛兜内排泄物残渣用直接涂片法检查。此法适用于宽度大于60 μm的虫卵检查。

4.3.2.5 排泄物样品中虫卵计数法

取排泄物样品2g放入三角烧瓶内，加饱和盐水58ml和玻璃珠若干，充分震荡混匀，吸取混匀液注入麦氏计数室，置显微镜下观察记数计数室（1cm²）内虫卵数。通常一次记数4个室，然后以平均值计。由于每室混匀排泄物样品等于0.15ml，结果以平均值乘以200，即为每克粪便虫卵数（the number of eggs per gram of feces, EPG）。本法适用于能被饱和盐水漂起的各种虫卵。

麦氏计数室：麦氏计数室由两片载玻片制成，其中下面一片为较宽的载玻片，上面一片窄的宽度为1.8cm。两载片间的距离为0.15cm，中间有相隔开的两个宽度为1.8cm的空室，空室内较窄载玻片向下面刻有1cm正方形的刻度线（内有刻度线划分），构成1个麦氏计数室。这是一种定量技术，常用于要计算每克粪便虫卵数或幼虫数量来预估动物感染强度或抗蠕虫药物效果。

4.3.3 排泄物样品的培养与幼虫分离

该方法用于区分无法通过检查新鲜排泄物样品鉴别的虫卵。

4.3.3.1 贝尔曼法

贝尔曼装置是由一个环形支架和一个玻璃漏斗（内放一块金属筛）或带滤网的漏斗组成。漏斗的茎由一根橡胶管连接到一个试管。然后将漏斗灌满水或生理盐水，温度约为30℃，在样本上方留1至3cm。只要保留相同的特征，可以用类似的材料设计出这种仪器的创新替代设计。这种方法利用了温水刺激样本中的线虫幼虫移动。一旦幼虫离开样本，它们就会在水中放松，沉入容器底部。

在贝尔曼装置的过滤网上铺一块方形的粗棉布或纱布。取排泄物15-20g样本放在粗棉布上，把多余的粗棉布叠在样本上面。慢慢加入温水或生理盐水直到浸没排泄物为止，并确保样本被温水或生理盐水覆盖。漏斗下接一短橡皮管，管下再接一小试管。静置1-3h或室温过夜。此时大部分幼虫游走沉于试管底部。拔取底部小试管，取其沉淀，在显微镜下检查。

4.3.3.2 培养皿培养法

在培养皿底部加草纸或滤纸一张，然后将欲培养的排泄物加水调成硬糊状，塑成半球形，放于培养皿内的纸上，并使半球形粪球的顶部略高出培养皿边沿，加盖时，盖应与培养皿边沿相接触。将此培养皿置25℃温箱中，注意保持培养皿内湿度（应使底部的垫纸保持潮湿状态）。经7d后，多数虫卵即可发育成第三期幼虫，并集中于培养皿盖上的水滴中。将幼虫吸出置载玻片上，放显微镜下检查。

4.3.4 注意事项

4.3.4.1 检查前，需小心仔细处理排泄物样品。动物消化道排泄物中可能存在一些对人类健康构成威胁的蠕虫、细菌和病毒，因而在检查排泄物样品过程中，检查人员应避免使用化妆品或隐形眼镜，始终穿戴洁净的实验服和乳胶或塑料手套及口罩。在检查完成后，用消毒液或肥皂彻底洗手，在实验区域，不得食用食品或饮料或吸烟。

4.3.4.2 检查过程中，即时记录原始数据或图片。

4.3.4.3 检查结束后，立即进行卫生清理。将剩余的排泄物样品或使用过的玻璃器皿或设备及时清理。并使用消毒溶液或杀灭蠕虫的清洗液彻底清洁检查区域表面。

4.4 消化道排泄物检查后处理

消化道排泄物检查利用完后应遵循GB/T36195进行无害化处理。

5 结果判定

依据下列虫卵或虫体特征，判定蠕虫虫卵为吸虫、绦虫、线虫或棘头虫虫卵。

5.1 吸虫

5.1.1 吸虫卵

吸虫卵多呈卵圆形或椭圆形，大小不一，卵壳有数层卵膜组成较坚实；大多数吸虫卵其一端有一个卵盖（日本血吸虫卵、嗜眼吸虫卵除外），卵内含有许多卵黄细胞及一个胚细胞，或含有一个已成形的毛蚴；颜色多为黄色，黄褐色，有的呈灰白色。

5.1.2 吸虫虫体

吸虫虫体多背腹扁平，呈叶状、舌状；有的似圆形或圆柱状；只有血吸虫为线状。虫体随种类不同，大小在0.3-75mm之间。体表常由具皮棘的外皮层所覆盖，体色一般为乳白色、淡红色或棕色。通常具有两个肌肉质杯状吸盘，一为环绕口的口吸盘，另一为位于虫体腹部某处的腹吸盘。腹吸盘的位置前后不定或缺失。生殖孔通常位于腹吸盘的前缘或后缘处。排泄孔位于虫体的末端。无肛门。

5.2 绦虫

5.2.1 绦虫卵

因种类不同，形状差异很大，虫卵多数无色，少数为黄色或黄褐色，在高倍镜下可见到三对小钩状物。圆叶目绦虫卵壳脆弱，无卵盖，卵壳在虫卵排出时已破裂脱落，常见的所谓“卵壳”实际上是胚膜，在带科绦虫胚膜的两层间呈辐射纹，虫卵圆形或不正圆形，内含六钩蚴；在裸头科绦虫卵呈圆形，方形或三角形，内有一个含六钩蚴的梨形器；假叶目绦虫卵椭圆形，卵壳颇厚，一端常有卵盖，胚膜被有许多纤毛，内含一个钩球蚴。

5.2.2 绦虫虫体

绦虫虫体呈带状、扁平，大小自数mm至10 m以上。由数个至数千个节片，各节片间有明显的界限。

5.3 线虫

5.3.1 线虫卵

线虫卵多呈椭圆形，大小不一，无色透明，有的呈灰白色，或褐色或黄褐色，多数虫卵两侧对称，卵可多半由最外层的蛋白质膜，中间几丁质膜和内层的卵黄膜组成，有些线虫如圆形科和毛圆科的虫卵无蛋白质膜，有的卵壳平滑，有的凹凸不平或呈蜂窝状，虫卵内含单个或多个卵细胞或已发育的幼虫。

5.3.2 线虫虫体

线虫虫体通常为细长的圆柱形或纺锤形，有的呈线状或毛发状。虫体分为头端、尾端、腹面、背面和侧面。天然孔有口孔、排泄孔、肛门和生殖孔。雄虫的肛门和生殖孔合为泄殖孔。活体通常为乳白色或淡黄色，吸血的虫体常呈淡红色。虫体大小随种类不同差别很大。寄生线虫均为雌雄异体，雄虫一般较小，后端不同程度地弯曲，有一些与生殖有关的辅助构造，显著地与雌虫有别。雌虫稍粗大，尾部较直。

5.4 棘头虫

5.4.1 棘头虫卵

棘头虫卵多呈椭圆形或长椭圆形，卵壳很厚，外膜上常呈点窝状或蜂窝状的构造，卵内中央有一个长椭圆形的胚胎，胚胎的一端有六个小钩，颜色多呈棕黄色。

5.4.2 棘头虫虫体

棘头虫虫体一般呈椭圆、纺锤或圆柱形等不同形态。大小为1~65 cm，多数在25 cm左右。虫体分为细短的前体和较粗长的躯干两部分。前端为一个与身体成嵌套结构的可伸缩的吻突，其上排列有许多角质的倒钩或棘。颈部较短，无钩或棘。躯干的前部比较宽，后部较细长。体表常有环纹，有的种有小刺，有假分节现象。体表常由于吸收宿主的营养，特别是脂类物质而呈现红、橙、褐、黄或乳白色。

附 录 A

(规范性)

测微技术

各种蠕虫的虫卵、幼虫和卵囊，常有恒定的大小，测量其大小，能作为确定其虫种的一种依据。虫卵和幼虫的测量应用测微器。

测微器由目镜测微尺和镜台测微尺组成。目镜测微尺是一个放于目镜中隔环上的圆形玻璃片，其上刻有50-100刻度的小尺。使用时，将目镜的上端旋开，将目镜测微尺置于镜头内隔上，再将镜头旋好，通过此镜头即可在视野内见到有一清晰的刻度尺。此刻度尺不具有绝对的长度意义，必须通过镜台测微尺换算。镜台测微尺是一载玻片，其中央封有一标准刻度尺，标准刻度尺是将1mm均分为100小格，亦即每小格的绝对长度为0.01 mm (10 μ m)。使用时将镜台测微尺放在显微镜载物台上，调整固定好测量时所用的物镜放大倍率，调节显微镜焦距能清楚地看到镜台测微尺上的刻度，移动镜台测微尺，使之与目镜测微尺重合，并使两者的起始端对齐，然后寻找下一个整数的对齐刻度。计算在此确定的物镜倍数、目镜倍数和镜筒长度的条件下，目镜测微尺中每格刻度所表示的实际长度。移去镜台测微尺，将待测量样本放在显微镜载物台上，用目镜测微尺去测量样本中虫卵、幼虫或卵囊的大小。应注意，以上计算获得的目镜测微尺的换算长度只适用于此显微镜，一定的目镜、一定的物镜等条件。更换其中任意一个条件，其换算长度必需重新测算。

附录 B

(规范性)

蠕虫虫体的保存和运输

1. 蠕虫虫体保存

采集的线虫应在水中简单清洗以去除附着物，然后将其放入热的70%酒精中。然后让酒精冷却，再进行检查。也将线虫储存在含5%的甘油酒精溶液中。绦虫（包括头节）应置于37℃的水中约1h，然后储存在5%甘油或70%酒精或5%-10%福尔马林的混合液中。吸虫应像绦虫一样保存。如果绦虫和吸虫后期进行染色，应先在冰水和自来水中交替让其“放松”大约3h，然后轻轻地压在两玻璃片之间浸入10%福尔马林中。

2. 蠕虫虫体运输

蠕虫应放入70%的酒精或10%的福尔马林中运输，以使其不具传染性。装蠕虫的容器必须密封良好，以免泄漏，并添加合适的包装材料，如聚苯乙烯泡沫填补物，以缓冲在运输过程中的任何碰撞。在炎热季节，标本应该加冷藏材料以保持低温条件。

参考文献

- [1] 孔繁瑶. 家畜寄生虫学, 第二版(修订版). 中国农业大学出版社: 北京, 2010.
 - [2] Hendrix CM, Robinson E. *Diagnostic parasitology for veterinary technicians*, sixth. Elsevier: Missouri, 2023.
 - [3] Bowman DD. *Georgis' parasitology for veterinarians*, 11th. Elsevier: St. Louis, 2021.
-

中国兽医协会
CVMA