

ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

团体标准

T/CVMA XXXXX—XXXX

反刍动物消化道排泄物原虫诊断技术规范

Diagnosis technical code for protozoa in the feces from 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。

本文件由中国兽医药学会兽医寄生虫病防治分会提出。

本文件由中国兽医药学会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

中国兽医药学会
CVMA

反刍动物消化道排泄物原虫诊断技术规范

1 范围

本文件规定了反刍动物消化道排泄物原虫诊断技术规范。

本文件适用于反刍动物消化道排泄物中原虫的诊断，包括牛、羊、鹿等反刍动物消化道排泄物的采集、保存、实验室显微镜检查和染色检查。

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 原虫

原虫 **protozoa**

即原生动物，是一类单细胞真核生物。它们能够通过一个细胞完成所有的生命活动，包括摄食、运动、感觉、代谢和繁殖等。原虫广泛分布于自然界的各种环境中，包括淡水、海水、土壤，甚至是一些极端环境中。其中，一些原虫种类是寄生的，它们生活在其他生物的体内或体表，依赖宿主获取营养。

4 检测步骤

4.1 消化道排泄物采集

从反刍动物身上获取新鲜的消化道排泄物。排泄物的新鲜度至关重要，特别是对于检测滋养体等运动形式的虫体。

4.1.1 选择适当的收集工具

使用干净的一次性手套和干净干燥的容器进行收集。避免使用金属容器，以免可能会与诊断程序中使用的某些化学物质发生反应。

4.1.2 动物准备

在采集消化道排泄物之前，应确保动物臀部干净。可以用水轻轻清洗该区域。并避免尿液或污垢的污染。

4.1.3 采集技术

4.1.3.1 对于牛、绵羊和山羊，最常见的方法是观察动物的排便。一旦动物开始排便，轻轻地直接从直肠采集新鲜的消化道排泄物，或通过戴手套的手或干净的一次性勺子或容器来采集。

4.1.3.2 如动物刚刚排便并且已知排泄物是新鲜的，则可以从地面收集消化道排泄物。应避免采集陈旧、受污染的排泄物。

4.1.4 采集量

采集大约10-20g消化道排泄物。

4.1.5 采集时注意事项

4.1.5.1 防止污染。避免消化道排泄物与尿液、垫料或土壤混合。

4.1.5.2 不要用手套触摸容器内部，以防止污染。

4.1.5.3 因反刍动物原虫的卵囊排出可能有间歇性，建议隔日检查，一周连检3次，以提高检出率。

4.1.6 动物相关信息

4.1.6.1 应记录动物相关的病史，例如动物的症状、近期饮食变化以及与其他有类似症状的动物接触情况。

4.1.6.2 应记录动物近期是否接受了抗寄生虫药物治疗，因为这可能会影响消化道排泄物中原虫的存在。

4.2 消化道排泄物运输

4.2.1.1 将收集到的排泄物放入带有紧密盖子的干净、防漏容器中。

4.2.1.2 在容器上贴上动物标识、收集日期和时间以及您的联系信息。

4.2.1.3 尽快将采集的消化道排泄物运送到实验室。如果无法立即运输，请将消化道排泄物存放在冰箱中，但避免冷冻，否则会破坏某些寄生虫阶段。

4.3 消化道排泄物检查

4.3.1 直接检查

4.3.1.1 在显微镜载玻片上，将少量排泄物与一滴生理盐水或水混合，盖上盖玻片。尽快在显微镜下从低倍放大倍率物镜开始，逐渐增加放大倍数以定位和识别原生动动物。观察有无运动形式的虫体，如滋养体等，注意观察其形状、大小和运动及具有任何显著特征的存在，如鞭毛、纤毛或伪足。

4.3.1.2 若没有看到运动形式，可准备额外的载玻片或使用其他诊断方法，如饱和蔗糖漂浮、醛-醚浓集或染色后进行检查。

4.3.2 染色检查

常使用革兰氏染色、抗酸染色、改良抗酸染色、金胺-酚染色等技术对载玻片进行染色。以助于识别原生动物的某些结构，有助于识别和分类。

4.3.2.1 铁苏木精染色法

主要用于检测隐孢子虫和贾第鞭毛虫寄生虫。收集新鲜的反刍动物消化道排泄物样本。将样本与生理盐水按照一定比例（如1:10）混合，搅拌均匀，形成悬液。取一滴样本悬液滴在干净的玻璃片上。用推片或涂片棒将悬液均匀涂布在玻璃片上，形成薄层涂片。自然晾干或用微热加热固定样本。使用苏木精染液进行初染，将染液滴在涂片上，覆盖整个样本区域，染色约1-2分钟。用水轻轻冲洗掉多余染料。使用铁明矾溶液进行对比染色，通常染色1-2分钟。再次用水冲洗掉多余染料。将涂片置于显微镜下，先用低倍镜观察，再切换到高倍镜观察。原虫会被染成蓝色。

4.3.2.2 改良抗酸染色法

同4.3.2.1方法制备好涂片。使用石炭酸复红或类似的抗酸染料进行初染。将染料滴在涂片上，覆盖整个样本区域，染色5-10分钟。用水轻轻冲洗掉多余染料。使用甲基蓝或碘液进行对比染色，通常染色1-2分钟。再次用水冲洗掉多余染料。将涂片置于显微镜下，先用低倍镜观察，再切换到高倍镜观察。原虫会被染成红色。

4.3.2.3 金胺-酚染色法

用于检测某些难以用常规染色方法观察到的原虫，如隐孢子虫。同4.3.2.1方法制备好涂片。然后用金胺溶液进行初染。将金胺溶液滴在涂片上，覆盖整个样本区域，染色约10-15分钟。用水轻轻冲洗掉多余染料。使用酚溶液进行对比染色，通常染色1-2分钟。再次用水冲洗掉多余染料。将涂片置于显微镜下，先用低倍镜观察，再切换到高倍镜观察。原虫会被染成橙黄色或金黄色。

4.4 消化道排泄物检查后处理

消化道排泄物检查利用结束后应遵循GB/T36195进行无害化处理。

5 结果判定

依据下列滋养体、包囊或卵囊的结构特征进行判定。常见反刍动物消化道中的原虫有牛羊球虫、牛羊贾第虫、隐孢子虫、纤毛虫和阿米巴等。

5.1 牛羊贾第虫

5.1.1 滋养体

滋养体呈倒置的纵切半梨形，长度约为9~21 μm ，宽度为5~15 μm ，厚度在2~4 μm 。虫体两侧对称，前端钝圆，后端尖细。背面隆起，腹面扁平。虫体前腹面有一个不对称的吸盘。虫体内含有两个细胞核，位于虫体前1/2处，每个核内有一个核仁。虫体具有四对鞭毛，分别位于前侧、后侧、腹侧和尾部。这些鞭毛由基体发出，基体位于两个细胞核之间稍微靠前的位置。前鞭毛向前伸出体外，其余三对鞭毛分别向后侧、腹侧和尾部伸出。虫体中间有一对平行的轴柱，连接尾部鞭毛，将虫体均分为两部分。还有一对中体，稍微弯曲，位于虫体中间位置并相交。贾第虫的滋养体形态通常在腹泻的动物消化道排泄物中被发现。

5.1.2 包囊

包囊呈椭圆形，长度为8~14 μm ，宽度为7~10 μm 。具有较厚的包囊壁，与虫体之间有明显的空隙。未成熟的包囊内含有两个细胞核，而成熟的包囊内含有四个细胞核。包囊的胞质内可见中体、鞭毛和轴柱等结构。包囊在正常消化道排泄物中可检出。

5.2 牛球虫

卵囊通常呈椭圆形或圆形。卵囊的大小因球虫种类而异，一般在10~30微米（ μm ）之间。卵囊壁光滑或有细微的颗粒状结构，颜色可能为无色、黄色或棕色。在适宜的环境条件下，卵囊内发育成孢子化卵囊，内含两个孢子囊，每个孢子囊含有4个子孢子。子孢子呈新月形或香蕉形，一端略尖，一端较钝圆。它们在孢子囊内排列紧密。

5.3 羊球虫

卵囊通常呈椭圆形或圆形。卵囊的大小因球虫种类而异，一般在10~30微米（ μm ）之间。卵囊壁光滑或有细微的颗粒状结构，颜色可能为无色、黄色或棕色。在适宜的环境条件下，卵囊内发育成两个孢子囊，每个孢子囊含有4个子孢子。子孢子呈新月形或香蕉形，一端略尖，一端较钝圆。它们在孢子囊内排列紧密。

5.4 隐孢子虫

卵囊呈圆形或椭圆形，有时略呈不对称形状。卵囊大小一般为4~5微米（ μm ），是所有动物寄生原虫中最小的之一。卵囊壁薄而均匀，成熟卵囊具有较厚的壁，颜色通常为无色或淡黄色。每个卵囊内含有4个子孢子，子孢子呈新月形或香蕉形，一端略尖，一端较钝圆。卵囊内还有一个较大的残体，通常位于子孢子的中央或稍偏位置。

5.5 阿米巴

反刍动物消化道排泄物中的阿米巴主要指的是溶组织阿米巴。

5.5.1 滋养体

滋养体呈卵圆形或略呈三角形，前端较平，后端略尖。大小约为8~20微米（ μm ）长，4~8 μm 宽。滋养体表面光滑，具有波动膜，可进行自主运动。细胞核位于中央，呈颗粒状，有时可见核仁。滋养体可以通过二分裂法繁殖。

5.5.2 包囊（Cyst）：

包囊呈圆形或卵圆形，直径约为5~8 μm 。包囊壁厚且坚硬，具有明显的分层结构。包囊内有一个或多个核，通常位于中央。

5.6 纤毛虫

5.6.1 槽巴克斯顿纤毛虫

5.6.1.1 滋养体

槽巴克斯顿纤毛虫的滋养体呈卵圆形或梨形，前端较平，后端略尖。滋养体的尺寸约为30~150×25~120微米（ μm ）。滋养体表面光滑，具有波动膜，可以进行自主运动。滋养体前端有一大的腊肠样的主核，位于体中部，其附近有一小核。全身覆有纤毛，胞口附近的纤毛较长。

5.6.1.2 包囊

包裹呈球形或卵圆形，直径约为40~60微米（ μm ），有两层囊膜。囊内包藏着一个虫体；有时有2个处于接合过程中的虫体。

5.6.2 结肠小袋纤毛虫

5.6.2.1 滋养体

滋养体通常呈卵圆形或梨形，大小约为30~150×25~120微米（ μm ）。虫体前端有一略为倾斜的沟，沟的底部为胞口，向下连接一管状构造，以盲端终于胞浆内。有一大的腊肠样的主核，位于体中部，其附近有一小核。身体后端有肛孔。胞浆中尚有空泡和食物泡等结构。全身覆有纤毛，胞口附近的纤毛较长。

5.6.2.2 包裹

包裹不能运动，呈球形或卵圆形，直径约40~60 μm ，有两层囊膜。囊内包藏着一个虫体；有时有2个处于接合过程中的虫体。

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