ICS 65.020.30
B 41

团　　体　　标　　准

T/CVMA XXXXX—XXXX

猪球虫病诊断技术

Diagnosis techniques for swine coccidiosis

征求意见稿

中国兽医协会
CVMA

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：

本文件主要起草人：

中国兽医协会
CVMA

中国兽医协会
CVMA

猪球虫病诊断技术

1 范围

本文件规定了猪球虫病临床诊断、病原检查、病理检查、综合判定等诊断技术要求。

本文件适用于猪球虫病的诊断、流行病学调查及检疫。

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/T 18647-2020 动物球虫病诊断技术

NY/T 541-2016 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 猪球虫病 swine coccidiosis

猪球虫病是由艾美耳科（Eimeriidae）等孢属（*Isospore*）和艾美耳属（*Eimeria*）的16种球虫所引起的以腹泻为特征的原虫病。

注1：9种常见种类的卵囊形态见附录A。

4 临床诊断

4.1 临床症状

4.1.1 猪等孢球虫（又名囊等孢球虫）病

多发生于1周龄~2周龄哺乳仔猪，主要临床症状是腹泻，持续4d~8d，排泄物从黄色到白色，恶臭（见附录C图C.1）。病猪表现为衰弱，脱水，发育迟缓，时有死亡，存活的仔猪生长发育严重受阻。

4.1.2 猪艾美耳球虫病

主要见于1月龄~3月龄腹泻仔猪，主要症状为食欲不振，腹泻，时有腹泻与便秘交替，可持续7d~10d。一般可自行耐过，逐渐康复。

4.2 诊断

中国兽医协会 CVMA

一般15日龄内的仔猪出现腹泻，用抗生素治疗无效时应怀疑为猪等孢球虫病。死后剖检，在仔猪小肠粘膜涂片内发现大量的裂殖体和配子体即可确诊。发病后期，采集粪样，在粪便中可查出大量球虫卵囊。

5 病原学检查

5.1 材料与试剂

5.1.1 试剂

饱和盐水和2.5％重铬酸钾溶液，配置方法分别见附录B中B.1和B.2。

5.1.2 器材

样品保存袋、记号笔、防水标签纸、孔径为0.25mm（60目）铜丝网或尼龙网、孔径为0.15mm（100目）铜丝网或尼龙网、100mL量筒、50mL烧杯、50mL离心管、10mL离心管、吸管、镊子、天平、离心机、麦克马斯特计数板、载玻片、盖玻片、显微镜等。

5.2 样品采集、保存和运输

5.2.1 粪便的采集

若是群体采样，采集新鲜粪便不少于300g；若是个体采样，采集新鲜粪便不少于100g。

5.2.2 样品保存

样品采集后置于样品保存袋中，封口后，每份样品的包装袋上均要贴上标签，写明采集地点、采集时间、年龄、粪便性状等详细资料，置于2°C~8°C冰箱内保存。

5.2.3 样品运输

将所采集样品在24h内送往实验室进行检测，运输条件应符合NY/T 541-2016。

5.3 操作

5.3.1 定性检查

5.3.1.1 取新鲜粪便 5g~10g，放入 50mL 烧杯，加入适量自来水。

5.3.1.2 轻轻搅匀，依次经孔径为 0.25mm 和 0.15mm 铜丝网或尼龙网过滤。

5.3.1.3 将滤液转移至 50mL 试管，600*g*（2500r/min）离心 10min。

5.3.1.4 倾去上清液，沉淀物中加入少量饱和盐水，混匀，将管内混悬液转移至 10mL 离心管内。

5.3.1.5 室温（25°C）用饱和盐水加满离心管，盖上盖玻片（盖玻片应与液面接触），静置 10min。

5.3.1.6 取下盖玻片，将有液体的一面盖在载玻片上，将载玻片置于显微镜载物台上，用 10×10 或 10×40 倍数进行检查。

5.3.1.7 定性检查的判定标准如下。

a）发现球虫卵囊，判为阳性，说明该猪（群）已感染球虫。将球虫阳性粪样置于2.5%重铬酸钾溶液，在25°C~28°C环境培养至孢子化卵囊，见附录A 球虫卵囊形态特征，确定球虫种类；

b）未发现球虫卵囊，需从5.3.1.1开始，重复检查5次，仍未见球虫卵囊，该粪样可判为阴性。同时还需连续采集粪便14d~21d，每天检查均未发现球虫卵囊，说明该猪（群）未感染球虫。

中国兽医协会 CVMA

5.3.2 定量检查

5.3.2.1 对定性检查中呈阳性的粪样，需进行定量检查。

5.3.2.2 将粪便充分混匀，每份粪样取 3 个重复。每个重复取 10g 放入 50mL 烧杯，加入适量自来水搅匀，先经孔径为 0.25mm 铜丝网或尼龙网过滤，用少量自来水冲洗 3 次~5 次滤网，再经孔径为 0.15mm 铜丝网或尼龙网过滤，用少量自来水冲洗 3 次~5 次滤网。将滤液转移至 50mL 离心管，600*g*（2500r/min）离心 10min。

5.3.2.3 将滤液移入 50mL 试管，600*g*（2500r/min）离心 10min，弃去上清液，沉淀用少量饱和盐水搅拌均匀，移入 100mL 量筒，加饱和盐水至 60mL 处，充分混匀。

5.3.2.4 用吸管吸取混悬液注满麦克马斯特计数板的 2 个计数室，静置 5min。

5.3.2.5 将麦克马斯特计数板置于显微镜下，用 10×10 倍数计数每个计数室（$1cm\times1cm\times0.15cm=0.15cm^3$）内的所有卵囊数，将两个计数室的卵囊数之和除以 2，即为卵囊平均值。计数过程中对于压线的卵囊，按左、上压线计，右、下压线不计处理。根据每次重复的卵囊平均值，计算出三个重复的平均值 A。

5.3.2.6 每克粪便卵囊数（oocyst per gram，OPG）按照公式（1）计算 OPG。

$$OPG=(A\div0.15)\times60\div10=A\times40 \quad (1)$$

式中：

A——5.3.2.5 中计算所得的平均卵囊数

5.3.2.7 对卵囊数较多的粪样，可在 60mL 总体积的基础上，用饱和盐水再稀释 B 倍后计数，按照式（2）计算 OPG。

$$OPG=A\times40\times B \quad (2)$$

式中：

A——5.3.2.5中计算所得的平均卵囊数；

B——饱和盐水稀释倍数。

5.3.2.8 定量检查的判定标准如下：

a）$OPG>1\times10^5$，为严重感染；

b）$1\times10^4\leq OPG\leq1\times10^5$，为中度感染；

c）$OPG<1\times10^4$，为轻度感染。

6 病理检查

6.1 材料准备

6.1.1 磷酸盐缓冲液（PBS），配制方法见附录 B.3。

6.1.2 恒温箱（4°C~60°C）、显微镜（100×）、酒精灯、凸刃小刀、棉拭子、自封袋、平皿等。

6.1.3 疑为发生球虫感染致死或将要死亡的猪。

6.2 病变检查

6.2.1 对疑似球虫感染致死或将要死亡的猪进行解剖，观察肠道病变情况。

6.2.2 尸体剖检所观察的特征性病变是急性肠炎，主要见于空肠和回肠，若发现肠道明显肿大、胀气或变形，肠浆膜面出现针尖大小、颜色为鲜红色、褐色或白色的斑点或斑块或结节；肠内容物充满血

中国兽医协会 CVMA

凝块、脱落的上皮细胞、纤维索样物、黏液等，呈暗红色、橙黄色或乳白色，多为稀薄状；肠黏膜增厚，有坏死的病灶等病变，可怀疑为球虫病。进一步做裂殖子、裂殖体或卵囊检查。

6.3 裂殖子/裂殖体检查

6.3.1 取病变明显的肠道（特别是小肠），纵向剪开，用磷酸盐缓冲液轻轻洗去黏膜表层的杂物，刮取少许黏膜。

6.3.2 将黏膜放在载玻片上，滴 1~2 滴磷酸盐缓冲液，加盖玻片，置于显微镜载物台上。

6.3.3 在高倍镜（×100）下观察，如见有大量球形的像剥了皮的橘子似的裂殖体（直径大多为 10μm~50μm）和香蕉形或月牙形的裂殖子（大小大多为 5μm~8μm×2μm~3μm），判为球虫感染。

6.4 卵囊检查

6.4.1 将病变明显的肠道，纵向剪开，取少量内容物，放在载玻片上，滴 1~2 滴磷酸盐缓冲液，加盖玻片，轻轻将内容物压散，置显微镜下检查，若见大量球虫卵囊（卵囊形态见附录 A 图 A.2~A.10），判为球虫感染。

6.4.2 或取有灰白色斑点或斑块的肠道，纵向剪开，用磷酸盐缓冲液轻轻洗去黏膜表层的杂物，刮取少许有灰白色斑的黏膜，放在载玻片上，滴 1~2 滴磷酸盐缓冲液，加盖玻片，轻轻将内容物压散，置显微镜下检查，若见大量球虫卵囊，判为球虫感染。

7 综合判定

7.1 疑似

凡出现4的临床症状或符合6.2的病变特征，可判为球虫病疑似病例。

7.2 确诊

凡符合6.2的病变特征，并满足6.3或6.4中检查结果为球虫感染。粪便定量检查结果满足5.3.2.8中a或b或c时，可判为球虫病病例。

中国兽医协会 CVMA

附 录 A
（资料性）

猪球虫种类及其卵囊形态特征

A.1 猪球虫及种类

在我国，已发现的虫种有：猪等孢球虫（又名囊等孢球虫，*Isospora suis*）、蒂氏艾美耳球虫（*Eimeria deblieck*i）、光滑艾美耳球虫（*Eimeria polita*）、粗糙艾美耳球虫（*Eimeria scabra*）、有刺艾美耳球虫（*Eimeria spinosa*）、新蒂氏艾美耳球虫（*Eimeria neodebliecki*）、猪艾美耳球虫（*Eimeria suis*）、极细艾美耳球虫（*Eimeria perminuta*）和豚艾美耳球虫（*Eimeria porci*），其中以囊等孢球虫的致病力最强，其次为蒂氏艾美耳球虫、光滑艾美耳球虫、粗糙艾美耳球虫和有刺艾美耳球虫。

A.2 猪等孢球虫

卵囊呈球形或亚球形，大小为（18.67μm~23.88μm）×（16.9μm~20.67μm），形状指数为1.18。无微孔。卵囊内含2个孢子囊，无极粒，无外残体。孢子囊呈椭圆形或亚球形，有4个子孢子。有内残体，无斯氏体。孢子化时间最早约为63h。猪等孢球虫的卵囊形态见图A.2。

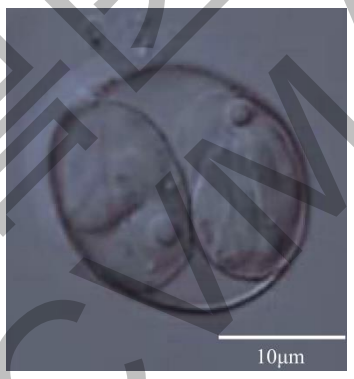


图 A.2 猪等孢球虫卵囊

A.3 蒂氏艾美耳球虫

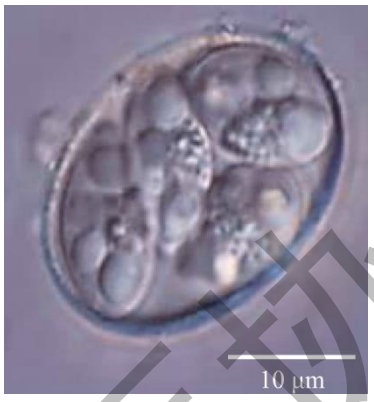
卵囊呈椭圆形或卵圆形，大小为（21.64μm~31.52μm）×（15.6μm~21.54μm），有极粒，无外残体，有斯氏体和内残体。孢子化时间约为170h。蒂氏艾美耳球虫的卵囊形态见图A.3。

图 A.3 蒂氏艾美耳球虫卵囊

中国兽医协会 CVMA

A.4 光滑艾美耳球虫

卵囊呈卵圆形或宽卵圆形，囊壁稍有粗糙，棕黄色，大小为（20μm~33μm）×（14μm~22μm）。无微孔和外残体。孢子囊呈卵圆形至椭圆形，大小为（13μm~19μm）×（5μm~9μm）。有斯氏体和内残体。潜在期7d~8d，显露期6d~8d。光滑艾美耳球虫的卵囊形态见图A.4。



图A.4 光滑艾美耳球虫卵囊

A.5 粗糙艾美耳球虫

卵囊呈圆形，卵壁粗糙，具有放射状条纹，黄色或褐色，大小为（23.01μm~35.10μm）×（16.0μm~25.13μm），形状指数为1.66。微孔明显，无极帽。有斯氏体，无内残体。孢子化时间约为194 h。粗糙艾美耳球虫的卵囊形态见图A.5。

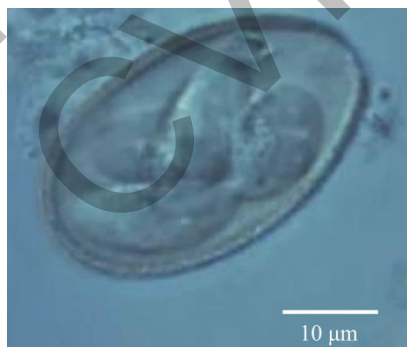


图 A.5 粗糙艾美耳球虫卵囊

A.6 有刺艾美耳球虫

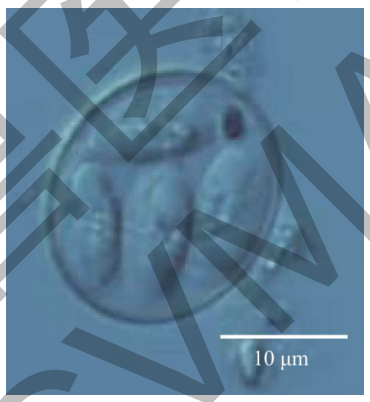
卵囊呈圆形，囊壁粗糙，上有细刺，褐色，大小为（21.75μm~28.32μm）×（16.25μm~21.24μm），形状指数为1.27。无微孔及外残体，有极粒、斯氏体和内残体。孢子化时间约为260h。有刺艾美耳球虫的卵囊形态见图A.6。

中国兽医协会 CVMA

图A.6 有刺艾美耳球卵囊

A.7 新蒂氏艾美耳球虫

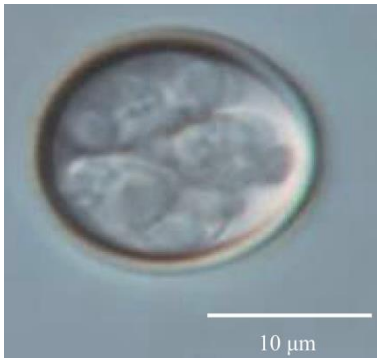
卵囊呈椭圆形，卵囊大小为（17.4μm~23.2μm）×（14.7μm~19.4μm），卵囊壁光滑，无卵膜孔和外残体，有极粒。孢子囊为长卵圆形，斯氏体明显，内残体呈颗粒状，成堆。卵囊孢子化时间约为192h。新蒂氏艾美耳球虫的卵囊形态见图A.7。



图A.7 新蒂氏艾美耳球卵囊

A.8 猪艾美耳球虫

卵囊为亚球形，卵囊大小为（l5.6μm~20.8μm）×（11.7μm~16.2μm）。卵囊壁光滑，无卵膜孔，无极帽和外残体，有极粒。斯氏体明显，内残体由较细小的颗粒组成，数量少。子孢子呈蚯蚓状，内有两个折光球。卵囊孢子化时间约为144h。猪艾美耳球虫的卵囊形态见图A.8。



图A.8 猪艾美耳球卵囊

中国兽医协会 CVMA

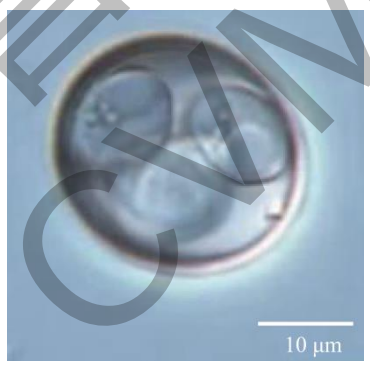
A.9 极细艾美耳球虫

卵囊呈圆球形，大小为（13.0μm~16.9μm）×（13.5μm~16.6μm），卵囊壁粗糙，无卵膜孔和外残体，有极粒。孢子囊近似椭圆形，有斯氏体，内残体颗粒粗大。卵囊孢子化时间约为168h。极细艾美耳球虫的卵囊形态见图A.9。

图A.9 极细艾美耳球卵囊

A.10 豚艾美耳球虫

卵囊呈卵圆形，卵囊大小为（19.5μm~23.4μm）×（14.3μm~17.7μm）。卵囊壁光滑，无卵膜孔和外残体，有极粒。孢子囊呈卵圆形，斯氏体不明显，内残体稀疏位于两子孢子之间。卵囊孢子化时间约为168h。豚艾美耳球虫的卵囊形态见图A.10。



图A.10 豚艾美耳球卵囊

中国兽医协会 CVMA

附 录 B
（资料性）

试剂及其配制

B.1 饱和盐水的配制

将食盐加入热水内，不断搅拌，直到食盐不再溶解为止（200mL约需75g食盐，浓度约为37.5%，比重约为1.20）。

B.2 2.5%重铬酸钾溶液

称取25g重铬酸钾固体，放入1 L烧杯中，加入蒸馏水至1000mL刻度处，充分搅拌使重铬酸钾完全溶解后，冷却至室温，即为2.5%重铬酸钾溶液。

B.3 磷酸盐缓冲溶液（PBS）

将下列试剂按次序加入 1000mL 定量瓶中：

氯化钠 8.00g

氯化钾 0.20g

磷酸氢二钠 1.44g

磷酸二氢钾 0.24g

蒸馏水 800mL

充分搅匀，用适量 1mol/L 盐酸调溶液的 pH 至 7.4，再加蒸馏水定容至 1 L。分装至 500mL 或 250mL 的玻璃瓶中，在 121kPa 压力下蒸汽灭菌 20min，室温保存。

中国兽医协会 CVMA

附　录　C
（资料性）

猪等孢球虫病典型临床症状

猪等孢球虫病典型症状见图C.1。

图C.1　猪等孢球虫病典型症状图（引自Bayer）

中国兽医协会
CVMA

参考文献

[1] 杨光友. 兽医寄生虫病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
[2] 孔繁瑶. 家畜寄生虫学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2010.
[3] 王楠皓. 我国部分地区规模化猪场猪球虫感染情况调查[D].河南农业大学, 2023.
[4] Gong QL, Zhao WX, Wang YC, et al. Prevalence of coccidia in domestic pigs in China between 1980 and 2019: a systematic review and meta-analysis[J]. Parasit Vectors. 2021, 14(1):248.

中国兽医协会
CVMA