

《鸡球虫耐药性监测样品采集技术规范》

编制说明

一、任务来源（包括目的意义）

鸡球虫病是由一种或多种艾美耳球虫寄生于鸡肠上皮细胞所引起的原虫性寄生虫病，是威胁养鸡业健康发展的主要寄生虫病之一。该病的防控长期以来主要依赖在饲料中持续添加抗球虫药物进行预防与治疗。然而，抗球虫药物的长期、广泛及不合理使用，已导致临床优势虫株对多种药物产生显著耐药性，多重耐药现象日益普遍，严重削弱了药物防控效果，影响养殖效益和产业可持续发展。

为落实《全国兽药残留与耐药性监测计划》及畜禽寄生虫病防控的相关要求，规范鸡球虫耐药性监测样品的采集流程，并动态掌握临床虫株耐药性演变趋势、筛选高效敏感药物、制定科学精准的防治策略，亟需建立一套统一、标准化的临床样品采集技术规范，以支撑鸡球虫耐药性系统监测与谱系分析工作的开展。制定《鸡球虫耐药性监测样品采集技术规范》，是实现鸡球虫病精准防控与科学用药的关键环节。本标准的实施将有效提高样品采集的代表性、规范性和可比性，确保监测数据的真实性与一致性，为抗球虫药物合理使用、耐药性风险评估及养鸡业绿色可持续发展提供重要的技术支撑。

为建立鸡球虫耐药性监测样品采集的统一技术标准，广东省农业科学院动物卫生研究所于 2025 年 4 月向广东省畜牧兽医学会提出了《鸡球虫耐药性监测样品采集技术规范》团体标准立项申请。学会随后组织了标准预研工作，并于 2025 年 10 月 14 日召开专家论证会，对立项申请进行了审查。经充分讨论与评估，专家组一致认为，该项目资料基本齐全、论证充分，符合国家产业发展需求，所申报的团体标准立项条件完备，同意立项。目前，标准研究团队已完成主要技术参数与指标的试验验证，形成了标准文本初稿。

二、起草工作简要过程（含主要参加单位及工作组成员）

1. 标准起草阶段

为制定本标准，项目组组织相关技术人员广泛查阅了国内外有关鸡球虫防控及耐药性研究的技术专著、科研论文，以及国家、地方和行业标准等大量文献资料，并结合生产实际开展了多轮技术研讨与预讨论工作。在标准起草过程中，项目组重点对鸡球虫耐药性监测样品采集的关键技术参数进行了系统验证，包括样品类型、采集数量、保存条件、运输要求及检测适用性等方面，确保技术指标的科学性与可操作性。截止 2025 年 11 月中旬，项目组已完成标准文本的初稿编制与修订工作，并组织同行专家进行了审查与技术论证，为标准的进一步完善和定稿奠定了基础。

2. 标准参与单位和参与人员

本文件由广东省农业科学院动物卫生研究所、深圳市农产品质量安全检验检测中心（深圳市动植物疫病预防控制中心）、中农华威制药股份有限公司、佛山市正典生物技术有限公司和广东省农业科学院农业生物基因研究中心联合起草。

本文件起草人为廖申权、孙铭飞、尹婵、游锡火、戚南山、李娟、蔡海明、林栩慧、吕敏娜、陈杰、宋勇乐、陈祥杰、朱易斌、邓奇精、张健騄、谭志坚、何钦义、曾徐浩、张晓爱等。

文件起草的具体分工如下：

廖申权：项目负责人，负责的标准的立项、整体方案确立及宣贯，负责标准的审阅、项目申报建议及相关技术文件的校订；

孙铭飞：负责标准文本质量的整体把握；

尹婵：负责标准中方法的建立；

游锡火、戚南山：负责各版本标准稿的讨论和修订工作及征求意见后的修改工作；
李娟：负责标准中部分方法的起草和验证；
蔡海明：负责仪器设备的验证、耗材的选择；
林栩慧、吕敏娜、陈杰、宋勇乐、陈祥杰、朱易斌、邓奇精、张健騄、谭志坚、何钦义、曾徐浩、
张晓爱：负责部分标准方法的验证及推广应用。

三、编写原则和确定标准主要内容的依据

（一）框架的确定

根据《鸡球虫耐药性监测样品采集技术规范》的编制要求，并结合国家标准编写格式，确定本标准的总体框架结构。标准主要包括以下内容：范围、规范性引用文件、术语和定义、样品采集、采样数量、样品保存与运输及记录要求等章节。

（二）标准的编写原则

1. 标准引用

样品采集、处理过程中涉及的实验操作，实验室用水，病死鸡临床诊断引用了已发布的国家标准 GB/T 6682《分析实验室用水规格和试验方法》、GB/T 18647《动物球虫病诊断技术》和 GB 19489《实验室生物安全通用要求》。

2. 实际科研和采样工作经验

标准编写人员廖申权、孙铭飞、尹婵、游锡火、戚南山、李娟、蔡海明、林栩慧、吕敏娜、陈杰、宋勇乐、陈祥杰、朱易斌、邓奇精、张健騄、谭志坚、何钦义、曾徐浩、张晓爱等，长期从事鸡球虫病流行病学调查、耐药性监测及综合防控技术研究与推广工作，具备丰富的理论基础和实践经验。在本标准的编制过程中，结合实验室的实际工作情况，对样品采集的技术要点和操作细节进行了系统总结与规范化编写。

项目组在鸡球虫病综合防控技术领域积累了深厚的研究基础，依托建设的畜禽寄生虫病诊断与防控工程技术研究中心，持续开展鸡球虫病的防控技术创新与应用研究。团队集成的“鸡球虫病综合防控技术”已连续 5 年入选广东省农业主推技术，并被评为广东省十大农业主推技术，为鸡球虫病的科学防控提供了有力的技术支撑。此外，项目组的相关研究成果在国际学术期刊上发表，其中《Epidemiological investigation of coccidiosis and associated risk factors in broiler chickens immunized with live anticoccidial vaccines in China》、《Prevalence, geographic distribution and risk factors of *Eimeria* species on commercial broiler farms in Guangdong, China》分别于 2024 年 3 月发表在 Frontiers in Veterinary Science (SCI 二区)，以及 2024 年 5 月发表在 BMC Veterinary Research (SCI 二区)，体现团队在鸡球虫病防控研究领域的创新能力。

（三）主要内容及其确定依据

1 样品采集

1.1 试剂与材料

1.1.1 试剂

2.5%重铬酸钾溶液，配制方法见附录 A，配制用水符合 GB/T 6682 三级水要求。

1.1.2 材料

15 mL 离心管、50 mL 离心管、100 mL 样品瓶、500 mL 样品瓶、1000 mL 样品瓶、记号笔、防水标签纸、手术剪刀、镊子。

1.2 仪器

电子天平。

1.3 采样对象

根据监测目的选择健康鸡或疑似鸡球虫感染的病死鸡进行采样。

1.4 样品类型

样品可包括粪便样品和肠道样品等。

1.5 采样方法

1.5.1 平养鸡采样法

在鸡舍内按照“W”形路线随机设置5个~10个采样点（图1），每个采样点采集3份~5份新鲜粪便样品（每份10 g~20 g），置于样品保存管中。将同一鸡舍内各采样点采集的新鲜粪便充分混合，作为一个混合样品，样品总量为150 g~1000 g。随后按等质量体积比（M/V）向混合样品中加入2.5%重铬酸钾溶液，充分混匀备用。



图1 平养鸡的粪便样品采集示意图

1.5.2 笼养鸡采样法

从不同笼位层级（上层、中层和下层）随机选择10个~15个笼位，分别采集粪盘中新鲜粪便样品（每份20 g~40 g），置于样品保存管中。将各笼位采集的粪便样品充分混合，作为一个混合样品，样品总量为200 g~600 g。随后按等质量体积比（M/V）向混合样品中加入2.5%重铬酸钾溶液，充分混匀备用。

1.5.3 散养鸡采样法

在散养鸡活动场地内选择鸡群活动较为频繁的区域，随机采集新鲜粪便样品，共采集10份~15份（总量约200 g），充分混合后作为一个混合样品，置于样品保存管中。随后按等质量体积比（M/V）向混合样品中加入2.5%重铬酸钾溶液，充分混匀备用。

1.5.4 病死鸡采样法

选取2只~5只疑似感染鸡球虫的病死鸡，其临床诊断依据GB/T 18647标准进行判定，不同虫种球虫感染后导致的病理变化见图2。分别从每只病死鸡采集十二指肠、空肠、回肠和盲肠肠段，每个肠段取约5 cm。将所选2只~5只病死鸡中相同部位的肠段样品分别混合，作为一个混合样品。随后按等质量体积比（M/V）向混合样品中加入2.5%重铬酸钾溶液，充分混匀备用。



图2 鸡球虫不同虫种感染所致的病理变化示意图

a: 堆型艾美耳球虫；b: 布氏艾美耳球虫；c: 巨型艾美耳球虫；d: 和缓艾美耳球虫；e: 毒害艾美耳球虫；f: 早熟艾美耳球虫；g: 柔嫩艾美耳球虫

注：部分引自（<https://eimeriaprevention.com/lesion-score-diagnose-coccidiosis-in-chickens/>）

1.6 采样工具

采样器具应保持清洁、干燥，并经70%乙醇擦拭和酒精灯火焰消毒处理不少于2 min。每份样

品均应使用独立的采样器具，以避免交叉污染。

2 采样数量

2.1 鸡舍级耐药性监测

每栋鸡舍采集 1 个~3 个混合样品。依据多次试验结果表明，同一栋鸡舍内鸡球虫的优势致病虫种及其耐药性特征具有较好的一致性，因此，采集 1 个~3 个混合样品即可具有代表性地反映该鸡舍的耐药性状况。

2.2 鸡场级耐药性监测

每个养殖场选取 3 个~5 个代表性鸡舍，覆盖不同饲养阶段，共采集 5 个~10 个混合样品。根据多次试验结果，同一养殖场内不同鸡舍的鸡球虫耐药性特征具有一定一致性。通过在不同饲养阶段选取 3 个~5 个代表性鸡舍，采集 5 个~10 个混合样品开展耐药性检测，其结果可具有代表性地反映该养殖场的耐药性水平。

2.3 区域耐药性监测

每个监测区域选取 3 个~5 个代表性养殖场，每个养殖场再选取 3 个~5 个代表性鸡舍，覆盖不同饲养阶段，每个养殖场共采集 5 个~10 个混合样品。通常将采用相同养殖模式或防控模式的养殖场划分为同一监测区域。在同一监测区域内，选取 3 个~5 个代表性养殖场进行监测，可较为全面地反映该区域鸡球虫的耐药性状况。

3 样品保存与运输

3.1 样品保存

样品采集后立即置于样品保存管，标明编号、采样日期、采样地点、采样人信息。样品置于 15℃~30℃保存，避免冷藏或冷冻，样品保存应不超过 72 h。

3.2 废弃物处理

采样废弃物按 GB 19489 规定的进行无害化处理。

4.3 样品运输

样品运送应放在防漏容器内，常温运输，样品应在 24 h 内送达检测实验室，并附带样品记录表。

5 记录

采样记录包括采样日期、地点、饲养方式、用药情况、采样人和采样编号等信息，样品采集登记表参见附录 B。

四、技术经济分析论证和预期的经济效益

（一）技术经济分析论证

鸡球虫病是影响我国养鸡业生产效益和食品安全的重要寄生虫病之一，常年发病率高、经济损失大。长期依赖化学抗球虫药物进行防控，导致耐药株快速扩散，药效下降，严重影响养殖效益和防控效果。目前，我国在鸡球虫耐药性监测方面尚缺乏统一的样品采集技术标准，不同地区、不同机构采样方式不一致，监测数据可比性差，难以形成系统的耐药性监测网络。本标准在系统总结国内外研究成果及试验验证的基础上，建立了鸡球虫耐药性监测样品采集的技术流程与质量控制要求，明确了采样对象、采样方法、采样数量、保存与运输条件等关键参数。标准内容科学合理、操作简便、可重复性强，能够有效提升样品采集的规范性与代表性，为后续实验室检测与数据分析提供可靠基础，具有较高的可行性和推广价值。

（二）预期的经济效益

通过统一的采样技术标准，可显著提高不同监测机构间数据的可比性与一致性，为建立国家级鸡球虫耐药性监测数据库提供技术支撑，减少重复采样与无效检测，降低监测成本。标准化的耐药性监测数据有助于科学评估药物敏感性变化趋势，指导饲料企业、养殖场选择高效药物与合理用药方案，从源头上减少抗球虫药物的滥用，降低耐药风险和药残隐患。通过科学监测和精准防控，可有效减少鸡球虫病的发生率和死亡率。据估算，标准实施后，在规模化养殖场应用可使球虫病造成

的经济损失降低约 20%~30%，提高饲料转化率和产蛋率，带来显著经济收益。标准的实施将推动我国鸡球虫病防控体系由经验防治向科学防控转变，提升畜禽寄生虫病监测与防控的整体水平，为畜禽产品质量安全、畜牧业绿色发展及兽药监管提供重要技术支撑。

五、采用国际标准和国外先进标准情况及水平对比

目前，国内外虽已发布部分与鸡球虫病相关的技术标准，但尚无专门针对鸡球虫耐药性监测样品采集的规范。世界动物卫生组织（WOAH）发布的《陆生动物诊断与疫苗手册》中虽提供了球虫病检测指南，但未涉及耐药性检测的采样要求；国家标准 GB/T 18647—2020《动物球虫病诊断技术》仅规定了用于球虫病诊断的粪便样品采集、保存与运输方法，不适用于耐药性监测样品的采集需求；行业标准 NY/T 541—2016《兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范》虽对寄生虫学检查样品提出了基本要求，但同样未能满足鸡球虫耐药性分析的特殊技术要求。

六、与现行法律、法规、政策及相关标准的协调性

本标准与现行的法律、行政规章、部门规章、国家和行业标准总体一致，并在现有规范的基础上补充和细化了针对鸡球虫耐药性监测样品采集的专门技术要求，弥补了现行标准在耐药性监测样品采集方面的空白，且不与上位法律法规相抵触。

七、征求意见的采纳情况

本次标准征求意见工作共收到来自南京农业大学、华南农业大学、河南农业大学、广州海关技术中心、广东省动物疫病预防控制中心、佛山大学等 12 家单位、12 位专家的反馈意见，共计 27 条。经标准编制组认真研究和核查，意见处理结果如下：采纳 23 条，部分采纳 3 条，不采纳 1 条。

采纳情况：主要对文本中存在的格式不统一问题进行了修正，如全角/半角波浪号使用不一致、计量单位与数值间空格不规范、字体不统一等；同时纠正了章节引用编号错误。进一步规范了采样管规格及采样工具的消毒处理要求；完善了鸡舍级、养殖场级和区域级耐药性监测的采样数量，并在编制说明中补充了相关依据；补充并细化了采样登记表信息，将临床症状明确划分为无症状、发病和死亡等情形。

部分采纳情况：结合鸡球虫的生物学特性，对采样工具的消毒处理方式进行了规范；同时，将“取等体积的 2.5% 重铬酸钾溶液”修改为表述更为准确的“按等质量体积比 (M/V) 向混合样品中加入 2.5% 重铬酸钾溶液”等。

不采纳情况：针对“仅采集病鸡的盲肠和小肠，未采集健康鸡相同部位肠段作为对照”的意见，编制组认为，本标准侧重于针对性采集病死鸡病料，以便分离和获得致病性优势虫种，并开展后续针对性的鸡球虫优势致病虫种耐药性分析。该做法更符合实际生产需要，其结果对临床用药指导具有更直接的应用价值，因此未采纳该意见。

目前，标准编制组已根据上述采纳及部分采纳的意见，对标准文本进行了相应修改和完善。

八、贯彻实施标准的措施和建议

本标准发布后，可通过相关部门组织的政策引导、技术培训、示范带动等多种措施，推动标准在监测机构、科研院所、兽医实验室及规模化养殖场中的全面落实，促进鸡球虫病防控工作的科学化、标准化和精准化。

九、其它应予说明的事项

无。