

中国实验动物中结肠小袋纤毛虫 快速鉴定及感染调查*

高正琴 (中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要:目的 建立结肠小袋纤毛虫快速鉴定方法, 进行国内实验动物感染调查, 为国家标准的修订提供参考依据。方法 选择2012年12月~2017年12月期间全国60个不同厂家的14 964只实验动物(包括:猴382只, 小型猪725只, 犬806只, 兔1 517只, 地鼠422只, 豚鼠1 545只, 大鼠1 489只, 小鼠8 053只, 鸡25只)作为调查对象。应用实时动态显微技术识别结肠小袋纤毛虫病原体。利用PCR和测序技术鉴定结肠小袋纤毛虫ITS, 18S rRNA和SSU RNA基因。结果 通过实时动态显微技术, 在这些样本中发现了少量的结肠小袋纤毛虫滋养体和包囊。通过PCR扩增和测序鉴定ITS, 18S rRNA和SSU RNA基因的分子特性证明了样本中结肠小袋纤毛虫的存在。2012年12月~2017年12月期间, 对14 964只实验动物调查结果显示, 结肠小袋纤毛虫感染率为0.03%(4/14 964)。结论 实时动态显微技术、PCR和测序技术相结合可完成实验动物的结肠小袋纤毛虫检验工作。国内实验动物中存在结肠小袋纤毛虫感染。因此, 建议设计合理的筛查程序用于防止动物传播的结肠小袋纤毛虫病。有必要开发新的诊断工具, 特别是快检技术用于这一重要人兽共患病的未来研究。

关键词:结肠小袋纤毛虫; 实时动态显微技术; 聚合酶链反应; 实验动物; 中国

中图分类号:R-332 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2018)05-019-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.05.006

Rapid Identification and Prevalence of *Balantidium Coli* Infection among Laboratory Animals in China

GAO Zheng-qin (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract: **Objective** To establish a rapid identification method for *Balantidium coli* (*B. coli*), and acquire the prevalence data on *B. coli* infestation in laboratory animals in China, and provide reference for the revision of national standard. **Methods** A total of 14 964 laboratory animals (including 382 monkeys, 725 mini-pigs, 806 dogs, 1 517 rabbits, 422 hamsters, 1 545 guinea pigs, 1 489 rats, 8 053 mice and 25 chicken) came from 60 different manufactures in China from December 2012 to December 2017 were chosen as respondents. Real-time dynamic microscopy technique was performed to identify the *B. coli* pathogen. Polymerase chain reaction (PCR) and sequencing techniques were used to detect ITS, 18S rRNA and SSU RNA genes of *B. coli*. **Results** A small number of trophozoites and cysts of *B. coli* were detected in these animals by using real-time dynamic microscopy technique. Molecular characterization by PCR amplification and sequencing of ITS, 18S rRNA and SSU RNA genes demonstrated the presence of *B. coli* in these animals. Among the total 14 964 laboratory animals investigated from December 2012 to December 2017, the prevalence of *B. coli* infection was 0.03% (4/14 964). **Conclusion** Real-time dynamic microscopy technique combined with PCR and sequencing technique can be used for the detection of *B. coli*. *B. coli* infection was present among laboratory animals in China. Thus, it is suggested to design reasonable screening programs for preventing animal-transmitted Balantidiosis. New diagnostic tools, especially rapid detection technologies, which is necessary to be developed in the future studies on this important zoonotic disease.

Keywords: *Balantidium coli*; real-time dynamic microscopy technique; polymerase chain reaction (PCR); laboratory animals; China

新出现的原生动动物病原体已经成为人类健康的主要威胁。在过去的二三十年里, 导致人类疾病的原生动动物病原体的数量一直在上升。免疫缺陷患者数量的显著增加、国际旅行的增加、森林砍伐和广泛的都市住所是导致原生动动物疾病流行病学变化的一些因素。结肠小袋纤毛虫是引起痢疾的重要原因, 特别是在免疫系统受损的人群中, 结肠小袋纤毛虫可能成为一种重要的病原体。结肠小

袋纤毛虫(*balantidium coli*)寄生于宿主结肠, 感染引起结肠小袋纤毛虫病(balantidiosis), 呈世界性分布, 主要流行于热带和亚热带地区, 大多数人类病例都来自南美和中美洲、中国、伊朗、印度尼西亚、菲律宾、新几内亚和太平洋岛屿。目前已知包括人在内的多种动物如猪、猩猩、猴、大鼠、豚鼠、马、牛、羊、鸵鸟、鹰等均可感染, 感染的范围从无症状、轻微腹泻到血粪和暴发性痢疾。在急性疾病

* 作者简介:高正琴(1976—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事病原生物学和快检新技术研究, E-mail: gaozhengqin@126.com。

中,可能每 20 min 就发生一次暴发性腹泻。在极少数情况下,结肠小袋纤毛虫也会侵犯其他器官,这在免疫缺陷患者中更常见^[1~12]。

目前,国内实验动物的结肠小袋纤毛虫感染概况在很大程度上是未知的。至今尚未见不同方法检定实验动物结肠小袋纤毛虫的具体研究及感染报道。本研究首次采用实时动态显微技术(real-time dynamic microscopy technique)和聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)及测序技术(sequencing technique),对国内实验动物的结肠小袋纤毛虫进行快速检定和感染调查,为国家标准的修订提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2012 年 12 月~2017 年 12 月,14 964 只表观健康的实验动物(包括:猴 382 只,小型猪 725 只,犬 806 只,兔 1 517 只,地鼠 422 只,豚鼠 1 545 只,大鼠 1 489 只,小鼠 8 053 只,鸡 25 只)来自全国 60 个不同厂家。猴、小型猪、犬、兔、鸡采集新鲜粪便。豚鼠、地鼠、大鼠、小鼠安乐死后采集肠道内容物^[13,14]。

1.2 试剂和仪器 QIAamp DNA Stool Mini

Kit, QIAamp DNA Mini Kit 为德国 Qiagen 公司产品;nuclease-free water 为美国 ProGema 公司产品;DNA Marker, Agarose, EX Taq, dNTP Mixture 为日本 TaKaRa 公司产品。显微镜及成像系统(Nikon, 日本);Gel Logic 凝胶成像分析系统(东乐自然基因生命科学公司);Verity 96 Thermal Cycler 基因扩增仪(Applied Biosystem, 美国);生物安全柜(Thermo Fisher Scientific, 美国)。

1.3 实时动态显微技术检测结肠小袋纤毛虫 在生物安全柜内,用生理盐水将待测粪便、肠内容物做适当处理,吸取混悬液滴片,采用实时动态显微技术检测样本中寄生虫病原体。根据虫体的形态和大小来进行虫种的鉴定。

1.4 引物设计和 DNA 提取 本研究针对结肠小袋纤毛虫的转录间隔区(internal transcribed spacer ITS), 18S rRNA 和 SSU RNA (small subunit ribosomal RNA) 基因区域,设计三对引物见表 1。用 QIAamp DNA Mini Kit 提取结肠小袋纤毛虫滋养体和包囊 DNA。用 QIAamp DNA Stool Mini Kit 提取粪便和肠内容物样本 DNA。

表 1

结肠小袋纤毛虫 PCR 引物序列

名称	序列	产物大小(bp)
BCITSF	5'-ATGGTTGAATATCAATCTAAATTTTCAACGATGGATGTCT-3'	300
BCITSR	5'-TCAGCGGGTCATCAAACTTGATTTCAGGTGCAAATTGAGA-3'	
BC18SF	5'-ATGGCCGTTCTTAGTTGGTGAGTGATTGTCTGGTTAAT-3'	354
BC18SR	5'-TCAGCTAGGCGATATGTATTTACTTATTTTCCGCGTCGG-3'	
BCSSURNAF	5'-ATGGCCGTTCTTAGTTGGTGAGTGATTGTCTGGTTAAT-3'	255
BCSSURNAR	5'-TCACGATGCATATTCGAGATTGCCATACCTGGCGGGCTA-3'	

1.5 PCR 和测序鉴定结肠小袋纤毛虫 经过长时间的研究摸索建立并优化 PCR 检测体系和反应条件,进行敏感度和特异度试验并应用于实验动物实际样本中结肠小袋纤毛虫检测。PCR 反应体系如下:5.0 μ l 10 \times Buffer (Mg^{2+} Plus), 4.0 μ l dNTP Mixture, 各 0.5 μ l 上下游引物, 0.25 μ l EX Taq, 2.0 μ l 模板 DNA, 用无核酸酶水(nuclease-free water)补足至 50 μ l。循环参数:95 $^{\circ}$ C 1 min 1 cycle; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 40 cycles; 72 $^{\circ}$ C 10 min 1 cycle。PCR 结束后,用琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。凝胶成像分析系统摄录试验结果。阳性样本测序鉴定。

2 结果

2.1 实时动态显微技术检测结肠小袋纤毛虫结果

可见少量巨大的卵形或椭圆形纤毛虫滋养体,不停地快速旋转运动,无色透明或浅灰略带绿色,大

小为(30~200) μ m \times (25~120) μ m,腹面略扁平,背面隆起,表面凹凸不平,体表完全覆盖着纤毛形成密集的纵向行,虫体前端有胞口和胞咽,后端有胞肛,中后部有伸缩泡,细胞质中含有许多食物颗粒及大小不等的食物泡,有肾形大核和圆形小核(图 1-A)。在一些滋养体内发现有许多内在生物,内在生物形态不规则,长度可达 5 μ m,能够从虫体壁形成囊泡而释放到外界(图 1-B)。包囊近圆形或卵圆形,淡黄或淡绿色,直径为 40~60 μ m,外被两层囊膜,囊壁稍厚,囊内结构同滋养体,唯食物泡少;新形成的包囊内可见虫体仍能活动(图 1-C)。依据纤毛虫滋养体和包囊的大小和形态特征,鉴定为结肠小袋纤毛虫。应用实时动态显微技术检测实验动物结肠小袋纤毛虫,结果从 14 964 份实验动物样本分离鉴定获得 4 份结肠小袋纤毛虫活体阳性样本,阳性检出率为 0.03%。

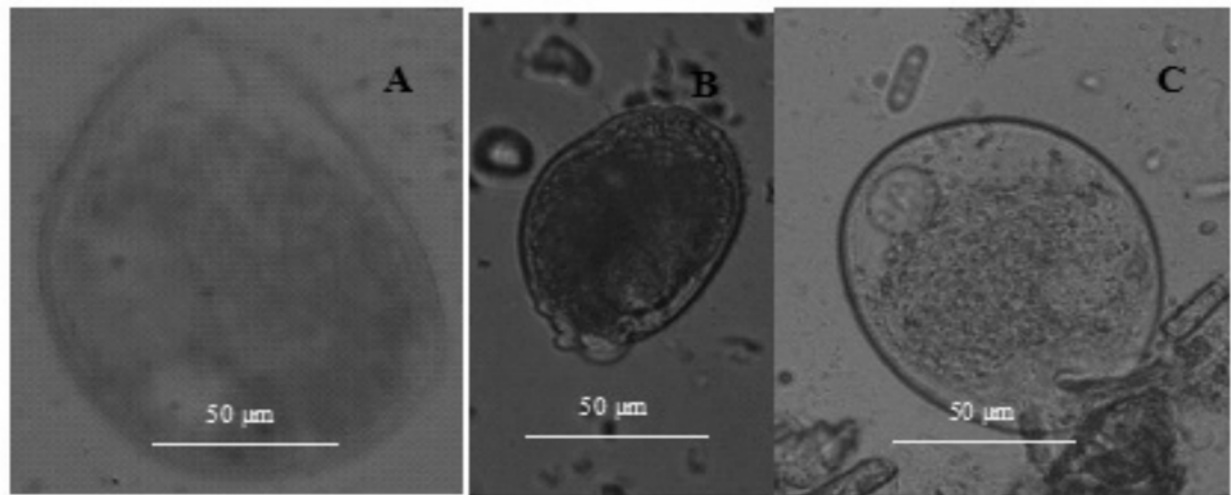


图1 中国实验动物中结肠小袋纤毛虫滋养体和包囊镜检形态(A,B:滋养体;C:包囊)

2.2 PCR和测序鉴定结肠小袋纤毛虫结果 将实时动态显微技术检出的结肠小袋纤毛虫滋养体和包囊,提取DNA做PCR检测,结果在单个滋养体和包囊DNA样本中,均可检出结肠小袋纤毛虫基因ITS(300 bp),18S rRNA(354 bp)和SSU RNA(255 bp)特异性目的片段。将测序鉴定的阳性样本基因序列实时递交NCBI,通过BLAST在线比对分析,结果发现本研究获得的实验动物中结肠小袋纤毛虫ITS,18S rRNA和SSU RNA核苷酸同源性达99%~100%(GenBank登录号为JN985904.1,AF045030.1,GQ903678.1,AY898942.1,AF029763.1)。应用PCR和测序技术检测14 964份实验动物实际样本中结肠小袋纤毛虫,结果检出4份阳性样本,阳性检出率为0.03%。这4份阳性样本均来自于豚鼠(表2)。

表2 中国实验动物中结肠小袋纤毛虫感染情况				
名称	数量	筛查试验 ^a	确证试验 ^b	阳性率(%)
小鼠	8 053	0	0	0
大鼠	1 489	0	0	0
豚鼠	1 545	4	4	0.3(4/1 545)
地鼠	422	0	0	0
兔	1 517	0	0	0
犬	806	0	0	0
小型猪	725	0	0	0
猴	382	0	0	0
鸡	25	0	0	0
合计	14 964	4	4	0.03(4/14 964)

注:a)实时动态显微技术(real-time dynamic microscopy technique);b)PCR和测序技术(PCR and sequencing technique)。

3 讨论 感染性肠胃炎(infectious gastroenteri-

tis,IGE)是由大量的细菌、病毒和寄生虫引起的。肠道寄生虫感染发生在世界上被边缘化、低收入和资源受限的地区,在非洲、亚洲和美洲的发展中地区有超过10亿的感染者。地球上大约有15 000个原生动物种。结肠小袋纤毛虫是一种原生动动物,它可以导致人类、猪和非人类灵长类动物的痢疾,是一种人兽共患病病原体。结肠小袋纤毛虫是人体最大的寄生原虫。该虫1857年首先由Malmsten^[15]在两名痢疾病人的粪便中发现,定名为结肠草履虫(*Paramecium coli*)。接着,Leukart^[16]在猪的结肠中也有发现。1862年Stein^[17]认为前两人所见为同一种,更名为结肠小袋纤毛虫(*Balantidium coli*)。结肠小袋纤毛虫生活史分滋养体和包囊两个发育阶段。包囊在宿主的结肠和直肠中开始形成,通常在形成的粪便中发现包囊。包囊是病原体的传播阶段。包囊壁厚不易受干燥和其他环境压力的影响。包囊在免受阳光直射潮湿的环境中生存最好。被感染性包囊污染的空气、水、食物、水果、蔬菜可造成感染传播。结肠小袋纤毛虫包囊被宿主吞食后,在胃肠道中受消化液的作用,包囊内的虫体脱囊而转化为滋养体,并下行至结肠内定居。滋养体以淀粉、细菌、肠壁细胞等为食,主要以横二分裂法进行繁殖。结肠小袋纤毛虫感染在人类中并不常见。这种有机体虽然具有致病性,但毒性较低。以下三种临床表现为:①轻度感染:导致间歇性腹泻与便秘;②急性感染:滋养体攻击肠道上皮,造成溃疡和引起血痢类似于阿米巴痢疾,可能会有头痛、发烧、恶心、呕吐、腹痛和肠道绞痛。在少数病例中,可能发生肠穿孔性溃疡,导致严重脱水、大出血休克甚至死亡;③慢性感染:间歇性腹泻与便秘交替发生,粪便中含有大量的黏液,但很少有血液。免疫抑制、长期有其他慢性疾病(如糖尿病、慢性肾病)、营养不良或肠道正常机能发生改

变时,结肠小袋纤毛虫则易于侵入组织并发病。感染者肠道内的菌丛组成对该虫的寄生或致病也具有一定影响,Ros-tekawska 观察发现变形杆菌、大肠埃希菌、沙门菌等对该虫的发育产生有害作用;而肺炎克雷伯杆菌、金黄色葡萄球菌及肠杆菌等则有促进作用。结肠小袋纤毛虫滋养体可分泌透明质酸酶及借助纤毛运动能侵及人体的多种脏器,如肝脏、肺、泌尿生殖道、阑尾等器官,引起肝脓肿、坏死性肺感染、子宫阴道炎症、尿路感染、膀胱炎、腹膜炎,侵犯肠黏膜甚至黏膜下层,引起溃疡。主要病变部位是盲肠和直肠,可延及全部结肠黏膜,偶尔也可侵及回肠末端。严重病例可出现大面积结肠黏膜的破坏和脱落^[18~32]。

LI等^[33]2013年5月检出中国广西壮族自治区笼养的120只恒河猴(*macaca mulatta*)粪便结肠小袋纤毛虫阳性率为64.2%(77/120),据推测,在这个非人类灵长类动物中心,有下列因素导致了恒河猴的结肠小袋纤毛虫感染:①未受感染的猴子从同一笼子里的阳性猴子粪便中摄取了包裹;②水和/或食物被猫或鼠的粪便所污染;③人类和猴子之间的交叉感染。Hinde^[34]收集了加勒比海灵长类动物研究中心46只圈养的恒河猴乳汁,研究发现:没有感染结肠小袋纤毛虫的母猴体内脂肪含量明显高于有结肠小袋纤毛虫感染的母猴体内脂肪含量,结果表明母猴结肠小袋纤毛虫感染和乳汁脂肪之间的联系显著。Tatfeng^[35]对234只被困在不同地点(厕所、客厅、厨房和卧室)的蟑螂进行细菌、真菌和寄生虫分离,结果分离获得了结肠小袋纤毛虫、蛔虫、鞭虫、沙门菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、念珠菌、曲霉菌等病原体,因此,控制蟑螂将大大减少病原体在环境中的传播。Rivera等^[36]从墨西哥30名随机挑选的女性龋齿患者的口、鼻和咽部检出了结肠小袋纤毛虫、溶组织内阿米巴等原虫。这些无症状携带者可传播此类原虫。Drakulovski等^[37]在喀麦隆43只猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)阳性和71只SIV阴性的野生黑猩猩粪便中检出了结肠小袋纤毛虫、溶组织内阿米巴、迈氏唇鞭毛虫、缩小膜壳绦虫等寄生虫,这些高水平的寄生虫感染可能会给在血液中存在大量SIV病毒的动物群带来额外的负担。Kouassi等^[38]报道科特迪瓦白眉猴的结肠小袋纤毛虫感染率为60.3%。Ryan等^[39]报道加纳狒狒的结肠小袋纤毛虫感染率为62%。Yaghoobi等^[40]报道伊朗野猪的结肠小袋纤毛虫感染率为64%。目前,国内外尚未见有关实验动物结肠小袋纤毛虫监测分析的报道,用不同方法快速检测鉴定该病原体的研究信息更少。因此,本研究调

查分析了不同种实验动物携带的结肠小袋纤毛虫,识别了此寄生虫,填补了这一研究空白。本次调查中,实验动物的结肠小袋纤毛虫感染率为0.03%。综上所述,本研究对结肠小袋纤毛虫进行了感染调查和分子诊断。应用实时动态显微技术跟踪监测寄生虫,使用PCR结合基因测序技术从分子水平上对结肠小袋纤毛虫进行确认,为快速准确鉴别诊断结肠小袋纤毛虫感染提供新的思路。

参考文献:

- [1] Schuster FL, Ramirez-Avila L. Current world status of *Balantidium coli*[J]. Clin Microbiol Rev, 2008, 21(4):626-638.
- [2] Nakauchi K. The prevalence of *Balantidium coli* infection in fifty-six mammalian species[J]. J Vet Med Sci, 1999, 61(1):63-65.
- [3] Bauri RK, Rnjan R, Deb AR, et al. Prevalence and sustainable control of *Balantidium coli* infection in pigs of Ranchi, Jharkhand, India [J]. Vet World, 2012, 5(2):94-99.
- [4] Headley SA, Kummala E, Sukura A. *Balantidium coli*-infection in a Finnish horse [J]. Vet Parasitol, 2008, 158(1/2):129-132.
- [5] Randhawa SN, Singla LD, Randhawa CS. Chronic cattle diarrhoea due to *Balantidium coli* infection-A clinical report[J]. J Vet Parasitol, 2010, 24(2):197-198.
- [6] Pomajbíková K, Petrz Elková KJ, Profousová I, et al. Discrepancies in the occurrence of *Balantidium coli* between wild and captive African great apes[J]. J Parasitol, 2010, 96(6):1139-1144.
- [7] Ferry T, Bouhour D, De Monbrison F, et al. Severe peritonitis due to *Balantidium coli* acquired in France [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2004, 23(5):393-395.
- [8] Bellanger AP, Scherer E, Cazorla A, et al. Dysenteric syndrome due to *Balantidium coli*: a case report[J]. New Microbiol, 2013, 36(2):203-205.
- [9] Lerman RH, Hall WT, Barrett O. *Balantidium coli* infection in a Vietnam returnee[J]. Calif Med, 1970, 112(6):17-18.
- [10] Cermeño JR, Hernández De Cuesta I, Uzcátegui O, et al. *Balantidium coli* in an HIV-infected patient with chronic diarrhoea[J]. AIDS, 2003, 17(6):941-942.
- [11] Vasilakopoulou A, Dimarongona K, Samakovli A, et al. *Balantidium coli* pneumonia in an immunocompromised patient [J]. Scand J Infect Dis, 2003, 35(2):144-146.
- [12] Anargyrou K, Petrikos GL, Suller MT, et al. Pulmonary *Balantidium coli* infection in a leukemic patient[J]. Am J Hematol, 2003, 73(3):180-183.
- [13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 14922. 1-2001 实验动物, 寄生虫学等级及监测[S].

- 北京:中国标准出版社,2001:1-2.
- General Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. GB/T 14922. 1-2001. Laboratory animals-standards and monitoring for parasitology[S]. Beijing:China Standard Press,2001:1-2.
- [14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 18448. 10-2001 实验动物. 肠道鞭毛虫和纤毛虫检测方法[S]. 北京:中国标准出版社,2001:27-28.
- General Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. GB 18448. 10-2001. Laboratory animal-Method for examination of Flagellata and Ciliata[S]. Beijing:China Standard Press,2001:27-28.
- [15] Malmsten PH. Infusorien als intestinal-thiere beim menschen[J]. Archfür Pathol Anatund Physiolog für Klin Med,1857,12(2/3):302-309.
- [16] Leuckart R. Ueber *Paramecium coli* Malmst[J]. Arch Naturgesch,1861,27:81-86.
- [17] Stein F. Ueber *Paramecium coli* Malmsten[J]. Amtl Ber Dtsch Chem Ges,1863,37:165.
- [18] Tempelis CH, Lysenko MG. The production of hyaluronidase by *Balantidium coli* [J]. Exp Parasitol, 1957,6(1):31-36.
- [19] Yazar S, Altuntas F, Sahin I, et al. Dysentery caused by *Balantidium coli* in a patient with non-Hodgkin's lymphoma from Turkey [J]. World J Gastroenterol, 2004,10(3):458-459.
- [20] Kapur P, Das AK, Kapur PR, et al. *Balantidium coli* liver abscess: first case report from India [J]. J Parasit Dis, 2016,40(1):138-140.
- [21] Koopowitz A, Smith P, van Rensburg N, et al. *Balantidium coli*-induced pulmonary haemorrhage with iron deficiency [J]. South Africal Medical Journal, 2010,100(8):534-536.
- [22] Lalueza A, Salto E, Lizasoain M, et al. Superinfection by *Balantidium coli* of a pulmonary hydatidic cyst [J]. Med Clin (Barc), 2007,129(19):758-759.
- [23] Sharma S, Harding G. Necrotizing lung infection caused by the protozoan *Balantidium coli* [J]. Can J Infect Dis, 2003,14(3):163-166.
- [24] Kaur S, Gupta A. Urinary balantidiasis: A rare incidental finding in a patient with chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Cytol, 2016, 33 (3): 169-171.
- [25] Rivasi F, Giannotti T. *Balantidium coli* in cervico-vaginal cytology. A case report [J]. Pathologica, 1983,75(1037):4342-4394.
- [26] Soleimanpour S, Babaei A, Roudi AM, et al. Urinary infection due to *Balantiodides coli*: a rare accidental zoonotic disease in an addicted and diabetic young female in Iran [J]. JMM Case Rep, 2016, 3 (1): e000102.
- [27] Umesh S. *Balantidium coli* on urine microscopy [J]. Natl Med J India, 2007, 20(5):270.
- [28] Bandyopadhyay A, Majumder K, Goswami BK. *Balantidium coli* in urine sediment: report of a rare case presenting with hematuria [J]. J Parasit Dis, 2013, 37 (2):283-285.
- [29] Khanduri A, Chauhan S, Chandola IVA, et al. *Balantidiosis*: a rare accidental finding in the urine of a patient with acute renal failure [J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8(5):DD03-DD04.
- [30] Karuna T, Khadanga S. A rare case of urinary balantidiasis in an elderly renal failure patient [J]. Trop Parasitol, 2014, 4(1):47-49.
- [31] Ferry T, Bouhour D, De Monbrison F, et al. Severe peritonitis due to *Balantidium coli* acquired in France [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2004, 23 (5):393-395.
- [32] Dodd LG. *Balantidium coli* infestation as a cause of acute appendicitis [J]. J Infect Dis, 1991, 163 (6): 1392.
- [33] Li HL, Li Q, Dong L, et al. Prevalence of *Balantidium coli* infection in bred rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) in Guangxi, southern China [J]. Iran J Parasitol, 2014, 9(1):125-128.
- [34] Hinde K. Milk composition varies in relation to the presence and abundance of *Balantidium coli* in the mother in captive rhesus macaques (*Macaca mulatta*) [J]. Am J Primatol, 2007, 69(6):625-634.
- [35] Tatfeng YM, Usuanlele MU, Orukpe A, et al. Mechanical transmission of pathogenic organisms: the role of cockroaches [J]. J Vector Borne Dis, 2005, 42 (4):129-134.
- [36] Rivera F, Medina F, Ramirez P, et al. Pathogenic and free-living protozoa cultured from the nasopharyngeal and oral regions of dental patients [J]. Environ Res, 1984, 33(2):428-440.
- [37] Drakulovski P, Bertout S, Locatelli S, et al. Assessment of gastrointestinal parasites in wild chimpanzees (*Pan troglodytes troglodytes*) in southeast Cameroon [J]. Parasitol Res, 2014, 113(7):2541-2550.
- [38] Kouassi RYW, McGraw SW, Kouassi Yao P, et al. Diversity and prevalence of gastrointestinal parasites in seven non-human primates of the Tai National Park, Côte d'Ivoire [J]. Parasite, 2015, 22:1.
- [39] Ryan SJ, Brashares JS, Walsh C, et al. A survey of gastrointestinal parasites of olive baboons (*Papio anubis*) in human settlement areas of mole National Park, Ghana [J]. J Parasitol, 2012, 98(4):885-888.
- [40] Yaghoobi K, Sarkari B, Mansouri M, et al. Zoonotic intestinal protozoan of the wild boars, *Sus scrofa*, in Persian Gulf's coastal area (Bushehr province), Southwestern Iran [J]. Vet World, 2016, 9 (10): 1047-1050.

收稿日期:2018-07-23

修回日期:2018-08-09