

日本血吸虫毛蚴检测 尼龙绢袋集卵孵化法

Detection of *Schistosoma japonicum* miracidium——

Egg hatching method after nylon mesh bag concentration

2018 - 09 - 26 发布

2019 - 04 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由国家卫生标准委员会寄生虫病标准专业委员会提出。

本标准起草单位：浙江省医学科学院寄生虫病研究所、中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所、安徽省血吸虫病防治研究所、江西省寄生虫病防治研究所、浙江省开化县疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：严晓岚、闻礼永、郑彬、汪天平、熊彦红、张剑锋、林丹丹、卢美、周晓农。

日本血吸虫毛蚴检测 尼龙绢袋集卵孵化法

1 范围

本标准规定了检测人体粪便中日本血吸虫毛蚴的尼龙绢袋集卵孵化法。
本标准适用于各级疾病预防控制机构和医疗机构对日本血吸虫毛蚴的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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。

WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

日本血吸虫虫卵 *Schistosoma japonicum* egg

呈椭圆形，淡黄色，大小为（74~106） μm ×（55~80） μm ，卵壳薄而均匀，无卵盖，侧面有一小棘，成熟虫卵内可见毛蚴。

3.2

日本血吸虫毛蚴 *Schistosoma japonicum* miracidium

日本血吸虫幼虫发育中的最早阶段，呈梨形或长椭圆形，左右对称，银灰色，大小为（78~120） μm ×（30~40） μm ，前端有锥形突起，体表具有纤毛。

3.3

毛蚴孵化 miracidium hatching

毛蚴在日本血吸虫虫卵内完成胚胎发育后破壳而出的现象。

4 仪器设备

4.1 光照培养箱

光照强度：1 Lx~5000 Lx

4.2 显微镜

光学显微镜：40×~400×

4.3 放大镜

放大倍数：10×

5 试剂材料

5.1 孵化用水

采用无原生动动物、水中余氯低于 0.3 mg/L、pH 6.8~7.2 的清洁水，参见附录 A。

5.2 尼龙绢袋

57 μm/25.4 mm（260目）尼龙绢袋，参见附录B。

5.3 筛子

孔径为 250 μm/25.4 mm（60目）。

5.4 烧瓶

250 mL或500 mL三角或长颈烧瓶。

5.5 其他

压舌板或竹签、夹子、毛细吸管、载玻片、2%碘酒等。

6 检测步骤

6.1 样本准备

采集受检者新鲜粪便，重量不少于30 g，存放于广口带盖且防渗漏洁净的密闭容器中，将受检者基本信息（姓名、编号、送检日期）标记于容器外部。采集后的样本应及时送检，如未能及时检测，应在 4℃条件下冷藏保存，时间不超过24 h。

6.2 样本检测

6.2.1 验收登记

验看粪便重量、质量及标签，核对无误后统一编号，登记。

6.2.2 淋水冲洗

6.2.2.1 将筛子叠放于尼龙绢袋上，尼龙绢袋下口用夹子夹住。

6.2.2.2 取受检者粪便30 g置于筛子中，用水冲淋，压舌板或竹签调浆，使粪液滤入尼龙绢袋中。

6.2.2.3 移去筛子，继续用水冲洗袋内粪渣，用压舌板或竹签轻轻振荡尼龙绢袋使过滤加速，直至滤出液变清为止。

6.2.2.4 将尼龙绢袋下口移入烧瓶口内，取下夹子，将袋内的滤渣用孵化用水淋洗入烧瓶，继续加孵化用水满至离瓶口1 cm处。

6.2.3 毛蚴孵化

将盛有滤渣的烧瓶置于光照培养箱（20℃~30℃）或相同室温下孵化，在3 600 Lx~3 800 Lx光照强度下，孵化4 h~12 h（范围为0.5 h~24 h），需观察2~3次，参见附录C。

每批实验均需设置血吸虫卵阳性粪便作为对照。

6.2.4 毛蚴观察

取出烧瓶，瓶口向着光源，背衬以黑色背景，平视观察水面下0~4 cm范围内浮游生物，每瓶每次观察时间不少于3 min。必要时可用放大镜观察。发现毛蚴后，用毛细吸管吸出，均匀分滴于载玻片上，观察其游动状态，然后加1滴碘酒固定，在显微镜下（40×~100×）观察形态。毛蚴应与水中原生动物相鉴别，参见附录D。

为提高检出率，如孵化阴性，可进行沉渣镜检虫卵。

6.3 结果判定

查见日本血吸虫毛蚴即判定为阳性。

附录 A

(资料性附录)

孵化用水、用具及废弃物处理

A.1 孵化用水处理

A.1.1 自来水处理 将自来水放在敞开的容器内静置 24 h 让其自然脱氯，或在自来水中加入硫代硫酸钠（4 mg/L~8 mg/L），静置 30 min 后使用。

A.1.2 井水处理 若水质较浑浊，可静置至澄清或加入明矾澄清水质（30 mg/L~40 mg/L）。若含有水中原生动物，可加入 65%有效氯的漂精片（3.4 mg/L）或 30%有效氯的漂白粉（7 mg/L）进行杀虫，然后静置 24 h 自然脱氯或硫代硫酸钠脱氯。

A.1.3 余氯测定

取处理后的水 100 mL 于纳氏比色管中，加邻甲苯胺 5 mL 混合 2 min~3 min 后，与余氯标准管比色测定。达到杀死水中原生动物的水余氯浓度应为 0.7 mg/L~1.0 mg/L，符合孵化用水余氯浓度应低于 0.3 mg/L。

A.1.4 pH 调节

孵化用水需经过 pH 值的测试，若水质偏酸，可采用 10%氢氧化钠溶液调节；若水质偏碱，可用 10%盐酸溶液调节。调节至最适宜的 pH 值范围内。

A.2 孵化用具处理

用具每次使用后要洗刷干净，用 70 °C~80 °C 热水浸泡 2 min~3 min 灭卵。

A.3 废弃物处理

存放粪便样本的容器、调浆后的淋洗水、粪渣等废弃物依据 WS 233 进行处理。

附录 B
(资料性附录)
尼龙绢袋和筛子制作

尼龙绢袋：呈圆锥弧形，上口直径为 80 mm，下口直径为 15 mm，深 200 mm。绢孔为 $57\ \mu\text{m}/25.4\ \text{mm}$ (260 目)。示意图见图 B.1。

筛子：呈圆柱形，外径为 90 mm，内径为 75 mm。筛孔为 $250\ \mu\text{m}/25.4\ \text{mm}$ (60 目)。示意图见图 B.1。

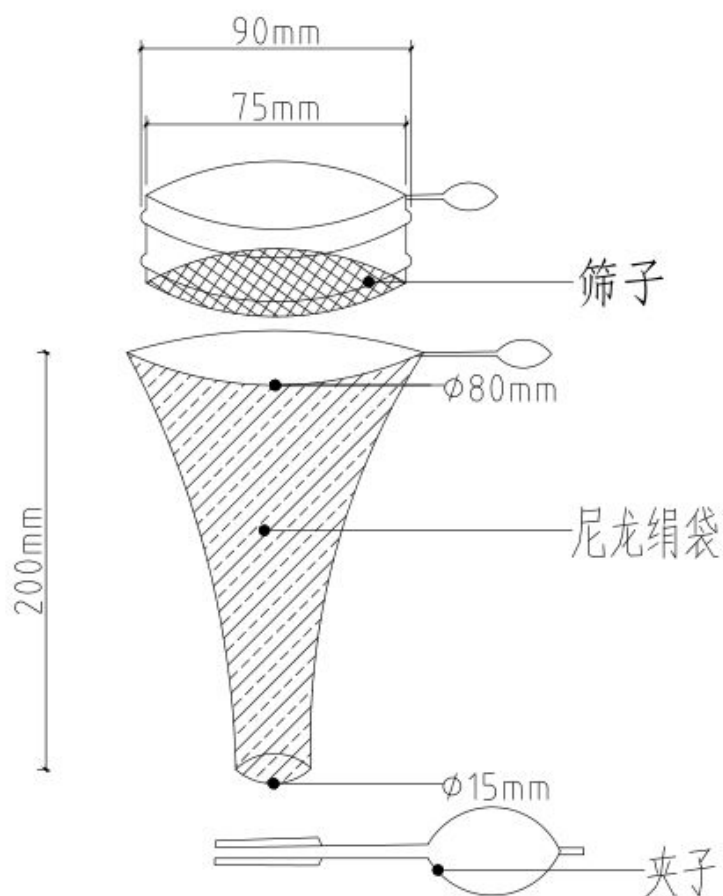


图 B.1 尼龙绢袋和筛子示意图

附 录 C
(资料性附录)
毛蚴孵化观察时间

毛蚴孵化一般需观察 2~3 次，观察时间随温度高低而不同。温度高时毛蚴孵化快，温度低时毛蚴孵化慢。25℃是毛蚴孵化的适宜温度。

温度超过 30℃时，第 1 次观察可在 0.5 h~1 h 后进行，阴性者可在 4 h 后观察第 2 次，8 h 后观察第 3 次；温度在 26℃~29℃时，可在孵化后 4 h 开始观察，阴性者 8 h 及 12 h 再观察 1 次；温度在 20℃~25℃时，则可在 8 h 后观察第 1 次，12 h 后观察第 2 次，24 h 后观察第 3 次。温度在 15℃~19℃时，则可在 12 h 后观察第 1 次，24 h 后观察第 2 次。当室温在 25℃以上时，可利用自然条件孵化，无需加温。见表 C.1。

表 C.1 不同温度下观察毛蚴的时间

温度 (°C)	观察毛蚴时间 (h)		
	第 1 次	第 2 次	第 3 次
30~40	0.5~1.0	4	8
26~29	4	8	12
20~25	8	12	24
15~19	12	24	—

附 录 D
(资料性附录)
毛蚋与水中原生动物鉴别

观察毛蚋时，应将烧瓶向着光源，并衬以黑色背景肉眼观察。必要时在显微镜下进行鉴别。毛蚋与水中原生动物的鉴别要点见表D.1。

表 D.1 毛蚋与水中原生动物的鉴别要点

鉴别要点	毛 蚋	原 生 动 物
形 状	针尖大，大小一致，稍带长形	大小不一，扁形或圆形
颜 色	透明发亮，有折光	灰黄或灰白色，不透明，无折光
游动速度	游动迅速，来回不停，匀速前进	游动缓慢，时游时停，游速不匀
游动方向	都为直线的斜向、横向、直向前进	多为曲线，无一定方向
游动方式	呈直线式，碰壁后折回，折回后又直线 匀速前进	呈间歇式、波浪式、螺旋式、跳板式和摇 摆式等
游动范围	多在水面下 0~4 cm 范围内	范围广，水之上、中、下层都有

参 考 文 献

- [1] 闻礼永. 血吸虫病监测手册. 北京: 人民卫生出版社, 2014
- [2] 吴观陵. 人体寄生虫学. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2013
- [3] 周晓农. 人体寄生虫病基层预防控制丛书. 北京: 人民卫生出版社, 2011
- [4] 卫生部疾病控制司. 血吸虫病防治手册. 3版. 上海: 上海科学技术出版社, 2000
- [5] WS 261-2006 血吸虫病诊断标准. 中华人民共和国卫生部.
-