

# 《日本血吸虫毛蚴检测 尼龙绢袋集卵孵化法 (WS/T 631—2018)》标准解读

严晓岚 闻礼永 郑彬 汪天平 熊彦红 张剑锋 林丹丹 周晓农

310013 杭州,浙江省医学科学院寄生虫病研究所(严晓岚、闻礼永、张剑锋);200025 上海,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所(郑彬、熊彦红、周晓农);230061 合肥,安徽省血吸虫病防治研究所(汪天平);330046 南昌,江西省寄生虫病防治研究所(林丹丹)

通信作者:闻礼永,Email: wenliyong@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4149.2018.06.003

【关键词】血吸虫;毛蚴;尼龙绢袋;孵化;标准

基金项目:国家卫生和计划生育委员会项目(20160301)

**Interpretation of standard for “Detection of *Schistosoma japonicum* miracidium—Egg hatching method after nylon mesh bag concentration (WS/T 631-2018)”**

Yan Xiaolan, Wen Liyong, Zheng Bin, Wang Tianping, Xiong Yanhong, Zhang Jianfeng, Lin Dandan, Zhou Xiaonong

Institute of Parasitic Diseases, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China (Yan XL, Wen LY, Zhang JF); National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200025, China (Zheng B, Xiong YH, Zhou XN); Anhui Provincial Institute of Schistosomiasis Control, Hefei 230061, China (Wang TP); Jiangxi Institute of Parasitic Diseases, Nanchang 330046, China (Lin DD)

Corresponding author: Wen Liyong, Email: wenliyong@126.com

【Key words】*Schistosoma japonicum*; Miracidium; Nylon mesh bag; Egg hatching; Standard

**Fund program:** Project of National Health and Family Planning Commission of China (20160301)

血吸虫病是一种严重危害人民身体健康和阻碍社会经济发展的重大传染病,控制和消除血吸虫病一直是我国寄生虫病防治工作的重中之重<sup>[1-3]</sup>。经过多年的艰苦努力,我国血吸虫病防治工作取得了显著成绩,截止 2017 年底,全国疫情达到了历史最低点<sup>[4]</sup>。但是血吸虫病低感染度传播流行状态将在全国较大范围内维持较长时间,人群查病工作依然是今后血吸虫病防治和监测工作的核心任务之一,亟需更加敏感、高效、标准化的病原学检测方法来提高检测效率。尼龙绢袋集卵孵化法,是目前国内外应用较广泛的方法<sup>[5]</sup>,但当前国内外尚无该法的技术操作规范。

《日本血吸虫毛蚴检测 尼龙绢袋集卵孵化法(WS/T 631—2018)》国家卫生行业标准于第 47 届世界标准日(2018 年 10 月 14 日)来临之际由国家卫生健康委员会发布通告(国卫通[2018]21 号)颁布,并于 2019 年 4 月 1 日起施行。该标准由浙江省医学科学院寄生虫病研究所联合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等单位组成专家组,本着“先进性、实用性、统一性、规范性”原则,参考《血吸虫病诊断

标准》(WS 261—2006)<sup>[6]</sup>,依据《病原微生物实验室生物安全通用准则》(WS 233—2017),遵循《卫生标准管理办法》规定并按照《GB/T 1.1—2009 标准化工作导则》的体例和写作方式进行编制,并采用专家咨询法多次征求临床、防治、科研、教学和管理领域的知名专家学者意见,对标准内容进行反复论证及现场验证,结合我国血吸虫病防治现状最终成稿。标准的颁布及实施,将进一步提高血吸虫病检测结果的准确性和可比性,可满足专业人员开展相关检测工作的需求,规范开展血吸虫病病原学检测,提高感染者的检出率,为有效控制和消除血吸虫病提供重要的技术保障。

标准包含适用范围、规范性引用文件、术语和定义、仪器设备的技术参数、试剂材料、检测步骤等六章内容,另附有 4 个资料性附录(孵化用水、用具及废弃物处理;尼龙绢袋和筛子制作;毛蚴孵化观察时间;毛蚴与水中原生动物鉴别)以充分解释,便于技术规范。标准内容简要分述如下。

## 一、适用范围及规范性引用文件

标准明确规定了尼龙绢袋集卵孵化法检测人体粪便中日本血吸虫毛蚴的技术规范,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。引用《病原微生物实验室生物安全通用准则(WS 233—2017)》。

## 二、术语和定义

标准明确了日本血吸虫虫卵、日本血吸虫毛蚴、毛蚴孵化的定义并作出解释。

1. 日本血吸虫虫卵(*Schistosoma japonicum* egg): 呈椭圆形, 淡黄色, 大小为(74~106)  $\mu\text{m}$ ×(55~80)  $\mu\text{m}$ , 卵壳薄而均匀, 无卵盖, 侧面有一小棘。成熟虫卵内可见毛蚴。

2. 日本血吸虫毛蚴(*Schistosoma japonicum* miracidium): 是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)  $\mu\text{m}$ ×(30~40)  $\mu\text{m}$ , 前端有锥形突起, 体表具有纤毛。

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。

## 三、仪器设备和试剂材料

光照培养箱光照强度为 1~5 000 Lx; 光学显微镜放大倍数为 40~400 倍; 放大镜放大倍数为 10 倍。孵化用水采用无原动物、水中余氯低于 0.3 mg/L、pH 6.8~7.2 的清洁水; 260 目尼龙绢袋, 孔径为 57  $\mu\text{m}$ /25.4 mm; 60 目筛子, 孔径为 250  $\mu\text{m}$ /25.4 mm; 250 mL 或 500 mL 三角或长颈烧瓶。其他为压舌板或竹签、夹子、毛细吸管、载玻片、2%碘酒等。

## 四、检测步骤

### 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 °C 条件下冷藏保存, 时间不超过 24 h。

### 2. 样本检测

(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。

(2) 淋水冲洗: 将筛子叠放于尼龙绢袋上, 尼龙绢袋下口用夹子夹住。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。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。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。

(3) 毛蚴孵化: 将盛有滤渣的烧瓶置于光照培养箱(20~30 °C)或相同室温下孵化, 在 3 600~3 800 Lx 光照强度下, 孵化 4~12 h, 需观察 2~3 次。每批实验均需设置血吸虫虫卵阳性粪便作为对照。

### 3. 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 4 cm 范围内浮游生物, 每瓶每次观察时间不少于 3 min。必要时可用放大镜检查。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(放大倍数为 40~100 倍)观察形态。毛蚴应与水中原动物相鉴别。为提高检出率, 如孵化阴性, 可进行沉渣镜检虫卵。

### 4. 结果判定

查见日本血吸虫毛蚴即判定为阳性。

## 五、标准施行中需要关注的重点

在标准施行过程中需要重点关注以下 3 点: (1) 由于血吸虫雌虫寄生在人体或哺乳动物的肠系膜静脉内产卵, 产出的卵大部分沉积在肠和肝组织, 仅小部分可随粪便排出体外, 因此标准要求采集受检者新鲜粪便, 重量不少于 30 g。采集后的样本应及时送检, 如未能及时检测, 应在 4 °C 条件下冷藏保存, 时间不超过 24 h。(2) 试验操作过程中使用孵化用水要求采用无虫、无余氯、pH 6.8~7.2 的弱碱性清洁水体用于孵化。标准附以了资料性附录加以明确, 包括自来水处理、井水处理及孵化水余氯测定和 pH 调节等。(3) 检测技术人员的操作技能和责任心是该方法质量控制的关键, 尤其针对低感染度样本, 孵化用水、样本检测的及时性和孵化温度等会影响毛蚴的孵化和结果的判定, 因此需要加强技术人员培训, 每批实验均需设置血吸虫阳性参考品作为对照。

## 参 考 文 献

- [1] 闻礼永. 血吸虫病监测手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014.  
Wen LY. Handbook of schistosomiasis surveillance[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2014.
- [2] 吴观陵. 人体寄生虫学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.  
Wu GL. Human parasitology[M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013.
- [3] 周晓农. 人体寄生虫病基层预防控制丛书[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.  
Zhou XN. Series of prevention and control of human parasitic diseases[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011.
- [4] 张利娟, 徐志敏, 戴思敏, 等. 2017 年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2018, 30(6): 481-488.  
Zhang LJ, Xu ZM, Dai SM, et al. Endemic status of schistosomiasis in People's Republic of China in 2017 [J]. Chin J Schistosomiasis Control, 2018, 30(6): 481-488.
- [5] 卫生部疾病控制司. 血吸虫病防治手册[M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2000.  
Department of Disease Control, Ministry of Health. Handbook of prevention and control of schistosomiasis[M]. 3rd ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2000.
- [6] 中华人民共和国卫生部. WS 261-2006 血吸虫病诊断标准[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.  
Ministry of Health of the PRC. WS 261-2006 diagnosis standard of schistosomiasis[S]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006.

(收稿日期: 2018-11-16)