

中 华 人 民 共 和 国 卫 生 行 业 标 准

WS/T 570—2017

肠道蠕虫检测 改良加藤厚涂片法

Detection of intestinal helminths— The Kato-Katz method

2017 – 08 – 01 发布

2018 – 02 – 01 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所、江西省寄生虫病防治研究所、云南省大理州血吸虫病防治研究所。

本标准主要起草人：陈颖丹、诸廷俊、周长海、许静、郑彬、李石柱、肖宁、周晓农、曾小军、刘宏坤。

肠道蠕虫检测 改良加藤厚涂片法

1 范围

本标准规定了改良加藤厚涂片法检测肠道蠕虫的操作流程。

本标准适用于各级疾病预防控制机构和医疗机构对人体粪便内蠕虫卵的检测。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

改良加藤厚涂片法 the Kato- Katz's method

通过过滤，定量板取样，用甘油浸泡的亲水性透明玻璃纸对粪样进行透明的一种粪便中蠕虫卵的定性与定量检测方法。

2.2

每克粪便虫卵数 eggs per gram; EPG

1g粪便中某种寄生虫卵的数目，是用来表示感染强度的指标。

2.3

肠道蠕虫 intestinal helminth

寄生于人体肠道内借助肌肉伸缩而做蠕形运动的多细胞无脊椎动物。

3 仪器设备

生物显微镜（100×~400×）和测微尺。

4 试剂材料

4.1 试剂

透明液的成分及配制：由纯甘油100ml、3%孔雀绿（或亚甲基蓝）水溶液1ml和蒸馏水100ml配制而成。

4.2 材料

4.2.1 塑料定量板

规格为 $30\text{mm} \times 40\text{mm} \times 1\text{mm}$ ，中央孔为圆台形，其上底半径 3mm ，下底半径 4mm ，高 1mm ，容积为 38.75mm^3 。

4.2.2 刮棒

$60\text{mm} \times 6\text{mm} \times 2\text{mm}$ ，一端平头，另一端为斜切面，斜切面斜边长 8.23mm 。

4.2.3 尼龙绢

80目，即每英寸（ 25.4mm ）长度内的筛孔数目为80，裁剪成 $8\text{cm} \times 8\text{cm}$ 大小。

4.2.4 亲水性透明玻璃纸

厚 $40\text{ }\mu\text{m}$ ，裁剪成 $25\text{mm} \times 40\text{mm}$ 大小，使用前在透明液中浸泡24h以上。

4.2.5 载玻片



$76.2\text{mm} \times 25.4\text{mm} \times 1\text{mm}$ 。

5 检测步骤

5.1 样本采集

检测样本为新鲜的粪便。采集受检者粪便约 30g ，存放于广口带盖且防渗漏的密闭容器中，将受检者基本信息（姓名、编号、送检日期）标记于容器外部。采集后的样本应在24h内送检，如未能及时检测，应在 4°C 条件下保存。

5.2 改良加藤厚片制作

5.2.1 取一张洁净的载玻片，在一端标注样本编号。将塑料定量板小孔朝上放置在载玻片中部。

5.2.2 将尼龙绢平放在粪便上摊开，用刮棒轻压尼龙绢，使尼龙绢与粪便紧密贴合，再用刮棒在尼龙绢上方刮取粪便。

5.2.3 将通过尼龙绢刮出的粪样填入定量板的中央孔中，直至填满刮平。

5.2.4 垂直向上移去定量板，使粪样留在载玻片上。

5.2.5 取一张已浸泡过的亲水性透明玻璃纸，抖掉多余的浸泡液后，覆盖在粪便上。取另一块洁净载玻片十字交叉垂直均匀轻压粪样，使亲水性透明玻璃纸下的粪便均匀展开，不溢出载玻片，形成厚薄一致的圆形粪膜，粪膜直径约 2cm 。

5.2.6 用拇指固定亲水性透明玻璃纸，将用来压粪样的载玻片轻轻平移取下，制好的改良加藤厚涂片放置在室温下使其透明，透明时间不易超过 2h 。

5.3 镜检

将已透明的改良加藤厚涂片置于生物显微镜下镜检，在 $10\times$ 物镜下按一定规律，如由上到下，由左至右检查全片，如需进一步鉴别在 $40\times$ 物镜下观察。

5.4 结果判定

5.4.1 根据改良加藤厚涂片中虫卵的大小、形状、颜色、卵壳、内容物、卵盖、小棘等特征综合判定虫种（参见附录 A）。

5.4.2 计数改良加藤厚涂片中虫卵数量，计算 EPG，并判定感染强度（参见附录 B）。

5.5 注意事项

5.5.1 粪膜透明后应及时镜检。若透明过度，薄壳虫卵易变形不易辨认，容易造成漏检或误判。一般在室温 25℃、75%湿度下，改良加藤厚片放置不宜超过 2 小时。若空气湿度大，气温较低，放置时间可适当延长。空气干燥，气温高，放置时间适当缩短。透明时切忌为了缩短透明时间而将改良加藤厚片放入烤箱或在阳光下暴晒。

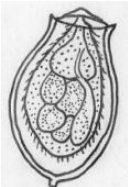
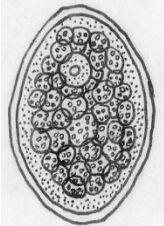
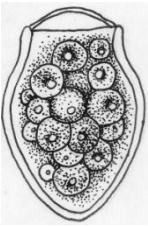
5.5.2 在药物疗效考核等防治专项研究中，EPG 的计算还须再乘以粪便系数（成形便 1，半成形便 1.5，软便 2，粥样便 3，水泻便 4），得到每克粪便虫卵数。由于儿童粪便总量比成人少，因此儿童每单位体积粪便中含虫卵数比成人多，故应以成人为标准，按比例减少，即儿童粪便所得虫卵数，1 岁-2 岁的乘以 25%，3 岁-4 岁的乘以 50%，5 岁-10 岁的乘以 75%，11 岁以上不减少。

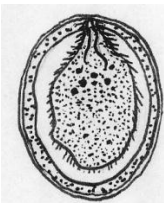
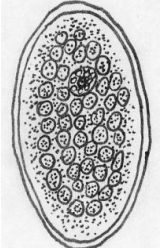
附 录 A
(资料性附录)
人体粪便中蠕虫卵鉴别

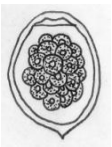
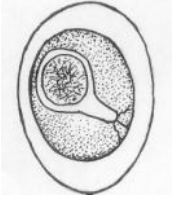
A.1 虫卵种类

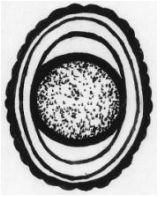
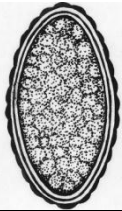
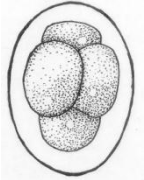
通过改良加藤厚涂片法能够检测到的寄生虫卵有：似蚓蛔线虫卵、毛首鞭形线虫卵、蠕形住肠线虫卵、钩虫卵（十二指肠钩口线虫卵、美洲板口线虫卵和锡兰钩口线虫卵）、曼氏迭宫绦虫卵、阔节裂头绦虫卵、带绦虫卵（猪带绦虫卵、牛带绦虫卵、亚洲带绦虫卵）、微小膜壳绦虫卵、缩小膜壳绦虫卵、司氏伯特绦虫卵、华支睾吸虫卵、布氏姜片吸虫卵、卫氏并殖吸虫卵、日本血吸虫卵、曼氏血吸虫卵、片形吸虫卵（肝片形吸虫卵、巨片形吸虫卵）、异型科吸虫卵、棘口科吸虫卵等，上述虫卵可在显微镜下通过其形状、大小、颜色、内容物、卵盖结构等加以鉴别（见表A.1）。

表A.1 人体粪便中蠕虫卵鉴别要点

虫卵	大小	形状	颜色	卵盖	卵壳	内容物	其他特征	模式图
华支睾吸虫卵	(27~35)) $\mu\text{m}\times$ (12~20)) μm	形似芝麻，一端较窄	淡黄褐色	有	卵盖周围的卵壳增厚形成肩峰	毛蚴	卵盖对端有小疣状突起	
布氏姜片吸虫卵	(130~140) $\mu\text{m}\times$ (80~85) μm	椭圆形	淡黄色	有	薄而均匀	近卵盖端有1个为未分裂卵细胞，周围约20~40个卵黄细胞	大型蠕虫卵	
卫氏并殖吸虫卵	(80~118) $\mu\text{m}\times$ (48~60) μm	椭圆形，左右多不对称，前端较宽，后端稍窄。	金黄色	有	厚薄不均，卵盖对端往往增厚	虫卵顶端有一半透明卵细胞及10~20个卵黄细胞及许多颗粒	—	

日本血吸虫卵	(58~109) $\mu\text{m} \times$ (44~80) μm	略呈椭圆形	淡黄色	无	厚薄均匀	内含一成熟的毛蚴,毛蚴和卵壳间常可见到大小不等的圆形或椭圆形的油滴状毛蚴分泌物	卵壳一侧有一逗点状小棘	
曼氏血吸虫卵	(114~180) $\mu\text{m} \times$ (45~73) μm	长卵圆形	棕黄色	无	卵壳粗糙, 双层	可见云雾状毛蚴轮廓	侧棘长而大	
片形吸虫卵(肝片形吸虫卵与巨片形吸虫卵)	(130~190) $\mu\text{m} \times$ (63~90) μm	椭圆形	淡黄褐色	有	薄, 分两层	卵细胞和卵黄细胞	虫卵较大	
异型科吸虫卵	(19~39) $\mu\text{m} \times$ (11~20) μm	形似芝麻, 一端较窄	黄褐色	有	卵壳较薄	内含成熟毛蚴	虫卵小, 与华支睾吸虫卵相似	
棘口科吸虫卵	(80~140) $\mu\text{m} \times$ (40~90) μm	椭圆形	淡黄色	有	卵壳薄	内含未分化的卵细胞和若干个卵黄细胞	虫卵较大	
曼氏迭宫绦虫卵	(52~76) $\mu\text{m} \times$ (31~44) μm	椭圆形	浅灰褐色	有	较薄	一个卵细胞和若干个卵黄细胞	—	

阔节裂头绦虫卵	(55~76) μm×宽 (41~56) μm,	卵圆形	浅灰褐色	有	较厚	卵内胚胎已开始发育	另一端有一小棘	
带绦虫卵(猪带绦虫卵、牛带绦虫卵、亚洲带绦虫卵)	直径 (31~43) μm	球形或近似球形	棕黄色	无	很薄而且脆弱	胚膜内是球形的六钩蚴,直径14μm~20μm,有3对小钩	外面有较厚的胚膜,具有放射状的条纹	
微小膜壳绦虫卵	(48~60) μm× (36~48) μm	圆球形或近圆球形	无色透明	无	很薄	内有透明胚膜,胚膜两端略凸起并由该处各发出4~8根丝状物,弯曲的延伸在卵壳和胚膜之间,胚膜内含有一个六钩蚴	—	
缩小膜壳绦虫卵	(60~79) μm× (72~86) μm	长圆形	黄褐色	无	较厚	胚膜两端无丝状物,卵壳与胚膜间有透明胶状物	—	
司氏伯特绦虫卵	(45~46) μm× (49~50) μm	不规则卵圆形	—	无	透明	内有一层蛋白膜包绕梨形结构,此结构一端具有双	—	

						角的突起,突出筒短可达卵壳,内含一六钩蚴		
似蛔蛔线虫卵 (受精)	(45~75) μm× (35~50) μm	宽椭圆形	棕黄色	无	厚而透明	内含一个大而圆的卵细胞,在其两端与卵壳间可见新月形空隙	卵壳外可有一层蛋白质膜,表面凹凸不平	
似蛔蛔线虫卵 (未受精)	(88~94) μm× (39~44) μm	长椭圆形	棕黄色	无	较受精蛔虫卵薄	充满大小不等的折光颗粒	卵壳外可有一层蛋白质膜,表面凹凸不平	
毛首鞭形线虫卵	(50~54) μm× (22~23) μm	纺锤形或腰鼓形	黄褐色	无	较厚	有1个尚未分裂的卵细胞	两端可各具一个透明栓	
蠕形住肠线虫卵	(50~60) μm× (20~30) μm	长椭圆形,两侧不对称,一侧扁平,一侧稍凸	无色透明	无	较厚,分3层,光镜下可见内外2层	含一蝌蚪期胚胎	—	
钩虫卵 (十二指肠钩口线虫、美洲板口线虫、锡兰钩口线虫)	(57~76) μm× (36~40) μm	椭圆形,两端钝圆	无色透明	无	较薄	2~4个卵细胞卵壳与卵细胞之间有明显空隙	—	

附 录 B

(资料性附录)

改良加藤厚涂片中虫卵的计数方法

B.1 全片计数

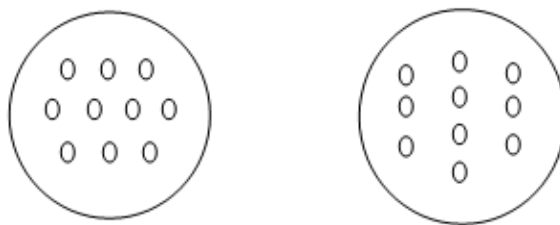
每张改良加藤厚涂片发现的似蛔线虫卵、毛首鞭形线虫卵、钩虫卵、华支睾吸虫卵、日本血吸虫卵等蠕虫卵都要全片计数。镜检所用显微镜目镜统一为10×的镜头。

B.2 推算虫卵数

B.2.1 推算步骤

当一张改良加藤厚涂片中某种虫卵数达数千甚至数万个时，计数比较费时，为此对改良加藤厚涂片虫卵计数作以下规定：每张涂片首先随意粗查几个视野，若每个视野中某种虫卵数在10个以上，可以暂不计数该虫卵。待读完全片的其他虫卵数，再用固定视野抽查法推算全片该虫卵数。具体步骤如下。

B.2.1.1 按图B.1分布固定抽查10个视野，并算出抽查的10个视野虫卵总数



图B.1 10个视野分布示意图

B.2.1.2 计算出该涂片粪膜视野数，再推算出全片虫卵数

按一定的规律，如自左而右，自上而下，再自右而左，一行接一行，一个视野接一个视野地用推进器移动涂片，数出全片粪膜视野数，则：全片粪膜虫卵总数=10个视野虫卵均数×全片粪膜视野总数。

B.2.2 感染度分级

塑料定量板每孔所容粪便重量平均为41.67mg，每张改良加藤厚涂片所得虫卵数乘以24即得每克粪便的虫卵数。

每克粪便虫卵数（EPG）=平均每张改良加藤厚涂片所得虫卵数×24

人体重要寄生虫感染度分级标准见表B.1。

表B.1 人体重要寄生虫感染度分级标准

虫 种	感 染 度 分 级 (EPG)		
	轻度感染	中度感染	重度感染
似 蚓 蛔 线 虫	<5000	5000~49999	≥50000
钩 虫 (十二指肠钩口线虫、美洲板口线虫、 锡兰钩口线虫)	<2000	2000~3999	≥4000
毛 首 鞭 形 线 虫	<1000	1000~9999	≥10000
华 支 睾 吸 虫	<1000	1000~9999	≥10000
日 本 血 吸 虫	< 99	100~ 399	≥ 400

参 考 文 献

- [1] WHO,1998.Guidelines for the evaluation of soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis at community level.
- [2] Yu Sen-Hai, Masanori Kawanaka, Li Xue-Min, et al. Epidemiological investigation on *Clonorchis sinensis* in human population in an area of south China. *Jpn.J.Infect.Dis.*,56,168-171,2003.
- [3] WHO. 1991. Basic laboratory methods in medical parasitology.
- [4] 诸欣平, 苏川. 人体寄生虫学 (第八版). 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- [5] 吴观陵. 人体寄生虫学 (第四版). 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [6] 余森海, 许隆祺. 人体寄生虫学彩色图谱. 北京: 中国科学技术出版社, 1992.
- [7] 林金祥, 李友松, 周宪民, 谷俊朝. 食源性寄生虫病图释. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [8] 中华人民共和国卫生部疾病控制司. 肠道寄生虫病防治手册. 福州: 福建教育出版社, 1996.
- [9] 薛纯良, 许隆祺. 寄生虫病诊断与治疗. 第1版. 湖南: 湖南科学技术出版社,2002.
- [10] 任光辉, 梁幼生. 非洲血吸虫病学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
-