

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 791—2021

---

钩虫检测及虫种鉴定标准 钩蚴培养法

Detection and identification standard of hookworm—

Hookworm larvae coproculture techniques

2021—11—23 发布

2022—05—01 实施

---

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

## 前 言

本标准由国家卫生健康标准委员会寄生虫病标准专业委员会负责技术审查和技术咨询，由中国疾病预防控制中心负责协调性和格式审查，由国家卫生健康委疾病预防控制中心负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位：河南省疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所、浙江省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：许汴利、邓艳、郑彬、陈伟奇、张雅兰、陈颖丹、阮卫、张红卫。

# 钩虫检测及虫种鉴定标准 钩蚴培养法

## 1 范围

本标准规定了钩蚴培养法对十二指肠钩口线虫和美洲板口线虫进行检测的方法。

本标准适用于各级疾病预防控制中心和医疗机构对钩虫的检测和虫种鉴定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本标准必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本标准；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则

WS/T 439 钩虫病的诊断

## 3 术语和定义

WS/T 439 界定的以及下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1

十二指肠钩口线虫 *Ancylostoma duodenale*

十二指肠钩虫

属于钩口科、钩口线虫属，我国主要分布于北方地区。

### 3.2

美洲板口线虫 *Necator americanus*

美洲钩虫

属于钩口科、板口线虫属，我国主要分布于南方地区。

### 3.3

钩蚴 hookworm larvae

钩虫的幼虫。

注：分为杆状蚴和丝状蚴两个阶段，丝状蚴为感染阶段幼虫，其形态特征有助于虫种鉴定。

## 4 仪器设备

- 4.1 生物显微镜（物镜 10 倍、40 倍，目镜 10 倍）。
- 4.2 培养箱（隔水式恒温）。
- 4.3 目镜测微尺（5mm/50/0.1mm）和物镜测微尺（1mm/100/0.01mm）。

## 5 试剂或材料

- 5.1 试管（12.0cm×1.5cm）或 15mL 离心管。
- 5.2 滤纸条（12 cm×2 cm），边缘整齐、无毛边，对孔径、流速无要求。
- 5.3 蒸馏水。
- 5.4 试管架。
- 5.5 载玻片（76 mm×26 mm）。
- 5.6 盖玻片（20 mm×20 mm）。
- 5.7 吸管（2mL、10mL）。
- 5.8 镊子。
- 5.9 刮棒（加藤板配套刮棒适用）。
- 5.10 温度计。

## 6 检测步骤

### 6.1 样本采集

取 5g~10g 新鲜粪便置于粪便采样盒或采样袋内，标记待检样本编号、采集日期，样本应及时送检。如未能及时检测，在 4℃~8℃条件下冷藏保存，时间应不超过 24h。

### 6.2 样本检测

- 6.2.1 在试管上标注待检样本编号和日期。
- 6.2.2 试管内加入室温蒸馏水约 2mL。
- 6.2.3 将滤纸条沿长轴对折，以保持挺直。
- 6.2.4 用刮棒取 0.3g~0.5g 粪便，均匀涂抹于滤纸中段偏上部，左右各留约 0.5cm，上端留约 1cm，下端留约 2.5cm 空白（见附录 A）。
- 6.2.5 将涂有粪便的滤纸插入试管，滤纸插入水中的深度以粪膜下缘距水面上 1cm 为宜（见附录 A）。

6.2.6 将试管置于培养箱内，31℃培养4 d，或室温26℃~30℃培养6 d~8 d。培养期间每日观察管底水量，必要时沿管壁加蒸馏水以保持原始液面高度，防止干燥。

6.2.7 分离幼虫：取出试管，沿管壁加入45℃蒸馏水，淹没滤纸上的粪膜，1 h后用镊子取出滤纸条，弃去。将培养管置于试管架上静置1 h，吸去上清液，留取约0.5 mL沉淀液。

### 6.3 镜下观察

将试管底部浸于50℃~60℃的热水内制动2min~3min。吸取管内沉淀物1滴~3滴于载玻片上，加盖玻片，将载玻片置于低倍镜下（10×10）弱光检查，发现疑似虫体后置于高倍镜下（40×10）观察形态结构，用测微尺测量幼虫大小。

### 6.4 结果判定

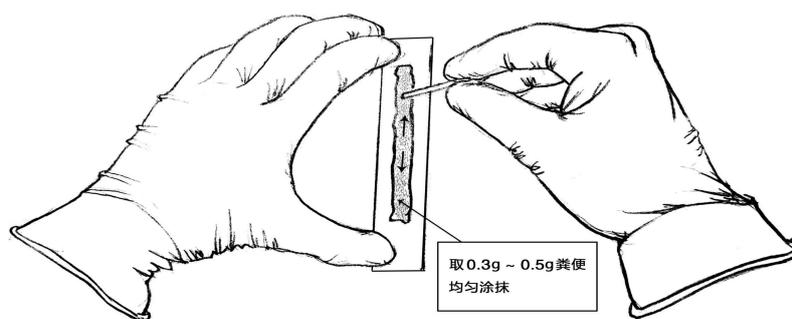
若一份样本所有沉淀物中均未检出钩蚴，判为阴性；若检出钩蚴，判为阳性。根据丝状蚴形态特征进行十二指肠钩虫和美洲钩虫的鉴定（见附录B），并与其他土源性线虫丝状蚴进行鉴别（见附录C）。

### 6.5 废弃物处置

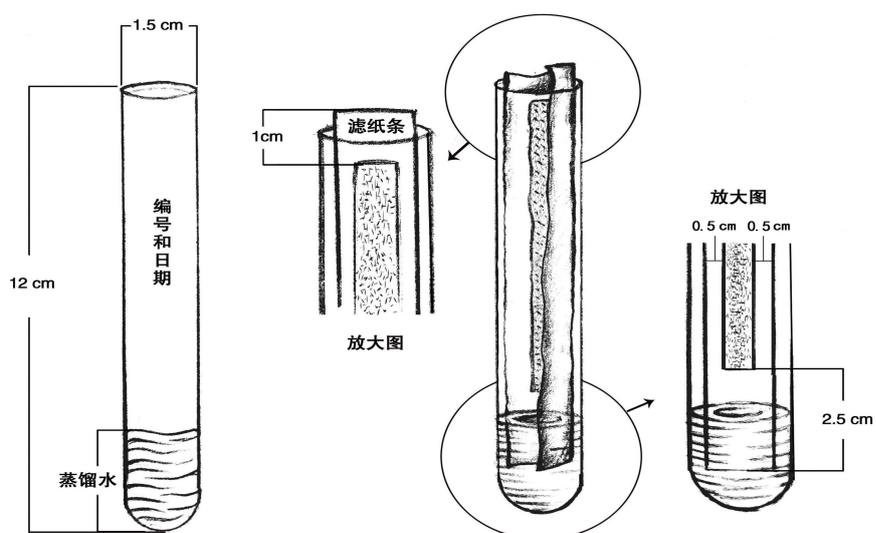
实验中所有材料应按照WS 233进行处理。

附录 A  
(资料性)  
钩蚴培养法操作示意图

钩蚴培养法操作可参照图A.1和图A.2。



图A.1 粪样涂抹示意图



图A.2 滤纸条及离心管位置示意图

附 录 B  
(资料性)

十二指肠钩虫与美洲钩虫丝状蚴的鉴别

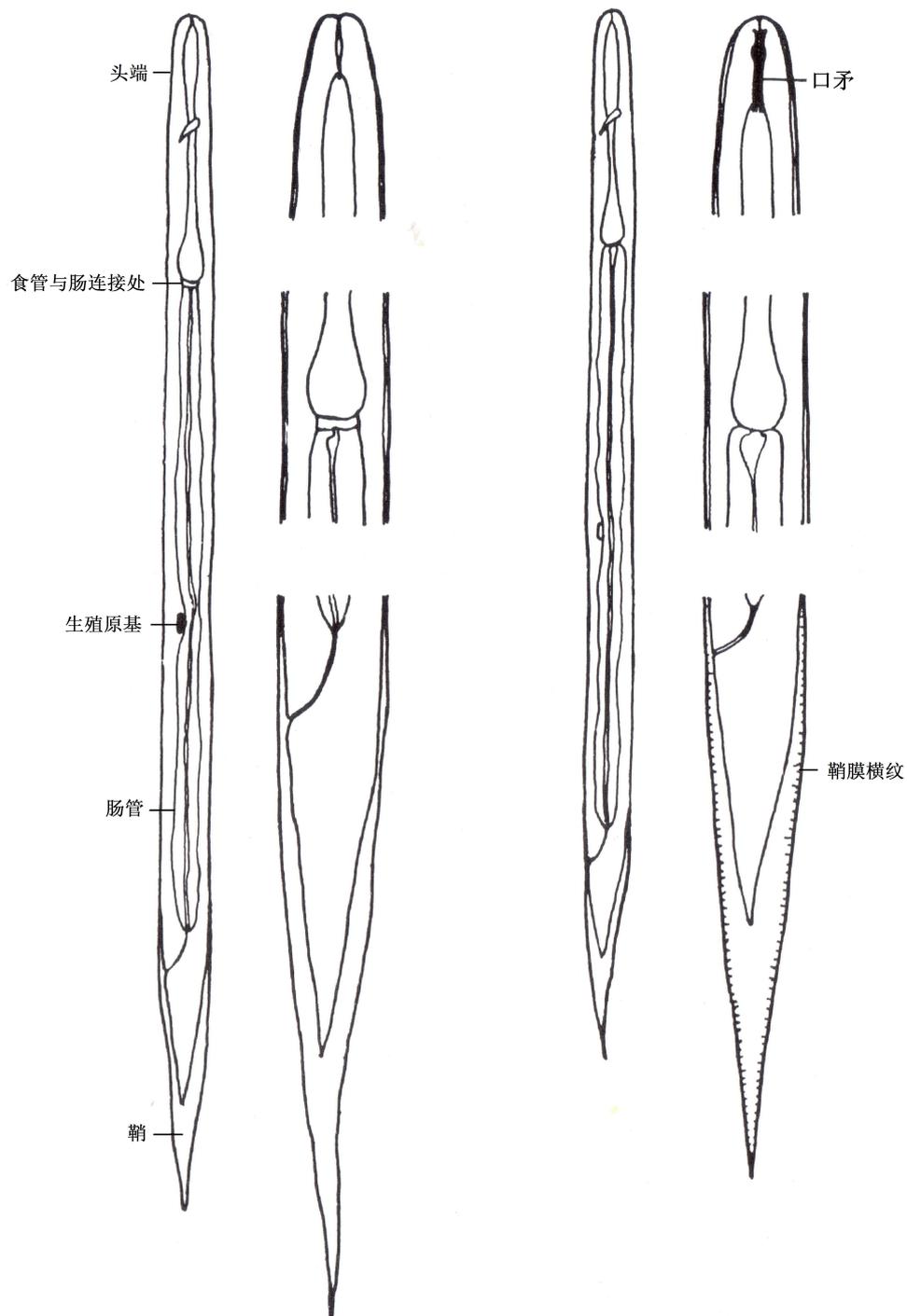
钩蚴分为杆状蚴和丝状蚴两个阶段，自卵内刚孵出的幼虫为杆状蚴，杆状蚴经过两期发育成为丝状蚴，长约0.5mm~0.7mm，体表覆有鞘膜，口腔封闭，在与食管连接处有2个角质状的矛状结构，称口矛。此期幼虫形态特征明显，两种钩虫丝状蚴的鉴别要点见表B.1、图B.1。

表B.1 十二指肠钩虫与美洲钩虫丝状蚴的鉴别要点

鉴别要点	十二指肠钩虫丝状蚴	美洲钩虫丝状蚴
外形	细长，自头至肛门宽度相近	粗短，自食管基部起渐次缩小
口矛	难见到或细、短	较易见到，呈暗色杆状
头端形态	扁平，中间微有凹陷	圆形，无凹陷
鞘膜横纹	不显著	显著
食管与肠连接处	呈微细颗粒状横带	透明状横带
肠管	管腔较窄，肠细胞颗粒丰富	管腔较宽，肠细胞颗粒少
生殖原基	肠管中部稍后	肠管中部稍前

十二指肠钩虫丝状蚴

美洲钩虫丝状蚴



图B.1 十二指肠钩虫及美洲钩虫丝状蚴形态示意图（仿WHO）

附 录 C  
(资料性)  
钩虫与其他土源性线虫丝状蚴的鉴别

钩虫与类圆线虫属(*Strongyloides*)、毛圆线虫属(*Trichostrongylus*)、结节线虫属(*Oesophagostomum*)等丝状蚴可通过鞘的有无、食管占体长比例、肠管腔直或弯曲、虫体尾端形态等特征进行虫种鉴别,主要鉴别要点见表C.1,图C.1。

表 C.1 钩虫、粪类圆线虫和东方毛圆线虫丝状蚴的形态鉴别

鉴别点	钩虫	粪类圆线虫	东方毛圆线虫
体长 (mm)	0.5~0.7	0.5	0.75
咽管	为体长的 1/5	为体长的 1/2, 咽管球不明显	为体长的 1/4
生殖原基	在虫体的中部	在虫体后部	-
尾端	尖细	分叉	有小球状物

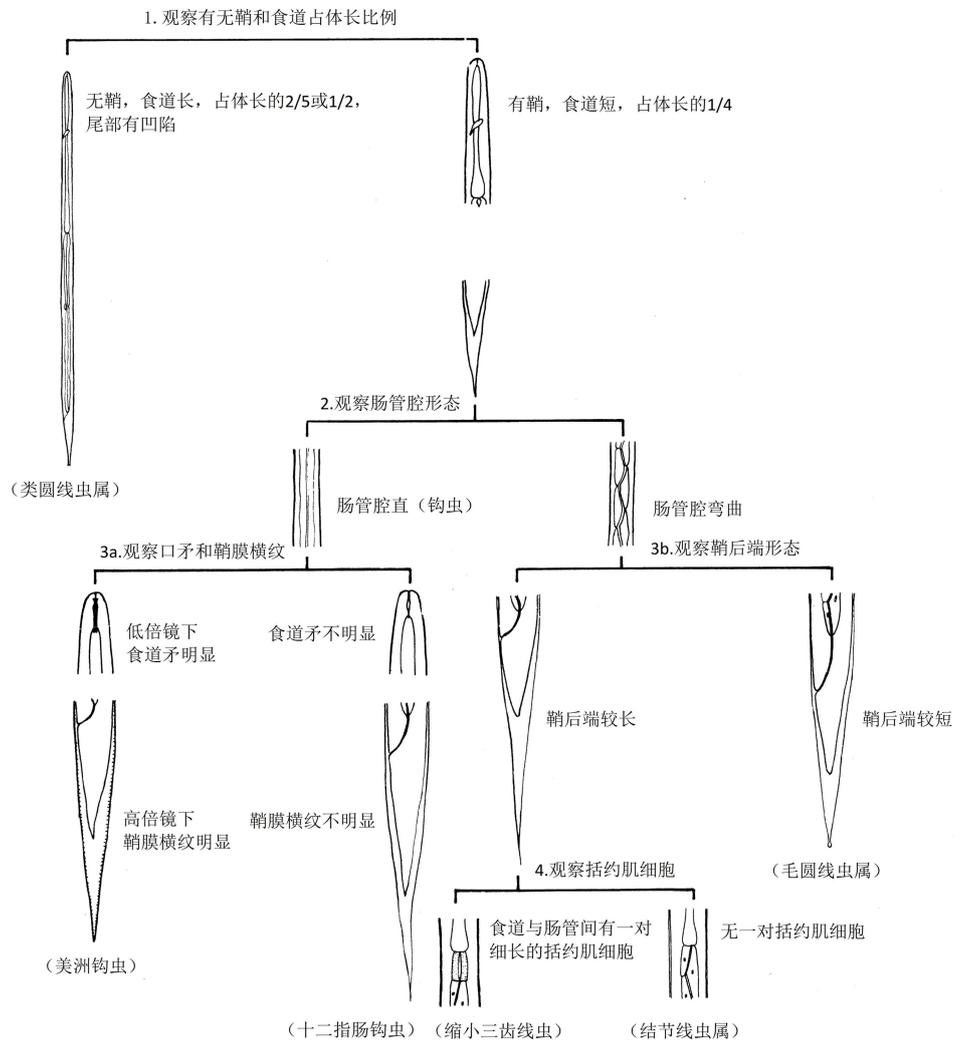


图 C.1 土源性线虫丝状蚴检索图 (仿余森海, 1992.)

## 参 考 文 献

- [1] 吴观陵. 人体寄生虫学. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2013.
  - [2] 许隆祺. 图说寄生虫学与寄生虫病. 北京:北京科学技术出版社, 2016.
  - [3] 薛纯良, 许隆祺. 寄生虫病诊断与治疗. 长沙:湖南科技出版社, 2002.
  - [4] 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.
  - [5] 诸欣平, 苏川. 人体寄生虫学. 9 版. 北京:人民卫生出版社, 2018.
  - [6] Harada Y, Mori O. A new method for culturing hookworm. *Yonago Acta Med.* 1955, 1:177-179.
  - [7] Kitvatanachai S, Taylor A, Rhongbutsri P, et al. Modified Harada-Mori and simple wet mount to determine hookworm infections in Yo Island urban area, Songkhla, Southern Thailand. *Trop Med Health.* 2019, 47(27):1-5.
  - [8] Martín-Rabadán P, Muñoz P, Palomo J, et al. Strongyloidiasis: the Harada---Mori test revisited. *Clin Microbiol Infect.* 1999, 5(6):374-376.
  - [9] Report of a WHO Scientific Group. World Health Organization Technical Report Series 666:Infestinal profozoan and helminthic infections. World Organisation for Animal Health and World Health Organization.1981.
-