

粪便无害化卫生标准

GB 7959—87

Sanitary standard for the non-hazardous
treatment of night soil

为贯彻“预防为主”的卫生工作方针，切实搞好粪便卫生管理和无害化处理，加强除害灭病的技术指导，改善城乡环境卫生面貌，保障人民身体健康，特制定本标准。

本标准适用于全国城乡垃圾、粪便无害化处理效果的卫生评价和为建设垃圾、粪便处理构筑物提供卫生设计参数。

1 定义

1.1 粪便是指人体排泄物。

1.2 堆肥是指以垃圾、粪便为原料的好氧性高温堆肥(包括不加粪便的纯垃圾堆肥和农村的粪便、秸秆堆肥)。

1.3 沼气发酵是指以粪便为原料，在密闭、厌氧条件下的厌氧性消化(包括常温、中温和高温消化)。

2 标准值

经无害化处理后的堆肥和粪便应符合表1、表2的卫生标准。

表1 高温堆肥的卫生标准

编 号	项 目	卫 生 标 准
1	堆肥温度	最高堆温达50~55℃以上，持续5~7天
2	蛔虫卵死亡率	95~100%
3	粪大肠菌值	$10^{-1} \sim 10^{-2}$
4	苍蝇	有效地控制苍蝇孳生，堆堆周围没有活的蛆、蛹或新羽化的成蝇

表 2 沼气发酵的卫生标准

编 号	项 目	卫 生 标 准
1	密封贮存期	30天以上
2	高温沼气发酵温度	53 ± 2 °C持续2天
3	寄生虫卵沉降率	95%以上
4	血吸虫卵和钩虫卵	在使用粪液中不得检出活的血吸虫卵和钩虫卵
5	粪大肠菌值	常温沼气发酵 10^{-4} 高温沼气发酵 $10^{-1} \sim 10^{-2}$
6	蚊子、苍蝇	有效地控制蚊蝇孳生，粪液中无孑孓，池的周围无活的蛆、蛹或新羽化的成蝇
7	沼气池粪渣	需经无害化处理后方可用作农肥

注：① 也可用于三格化粪池和密闭贮存方法处理粪便效果的卫生评价。

② 在非血吸虫病和钩虫病流行区，血吸虫卵和钩虫卵指标可以不检。

3 监测检验方法

堆肥、粪稀中粪便大肠菌群和寄生虫卵的检验，采用本标准附录的方法，见附录A、B、C、D、E（补充件）。

4 监督与执行

4.1 本标准由城乡建设和设计等单位负责执行。

4.2 各级卫生防疫机构负责监督本标准的执行。

附 录 A
堆肥、粪稀中粪大肠菌群检验法
(补充件)

粪大肠菌群是一群需氧及兼性厌氧,在44.5℃24h内能分解乳糖、产酸产气的革兰氏阴性无芽孢杆菌。

评价无害化效果采用粪大肠菌群菌值表示。

菌值:是含有一个粪大肠菌的克数或毫升数。

A.1 样品采集及混悬液制备

样品的采集和混悬液制备,是堆肥、粪稀微生物检验的重要步骤。要求样品应具有代表性,并认真进行样品处理和正确的制备混悬液,才能保证检验结果的准确性。

A.1.1 样品采集:堆肥样品的采集一般是在堆肥前用无菌小铲采集混拌均匀的堆料,以3~5个单个样品混合后制成一个约500g的平均样品,置无菌广口瓶内供检验。对已堆制好的堆肥,则根据需要,从堆肥的表层(30cm以内)和中层(深50cm以上)各采集三点,制成一个约500g的表层和中层的平均混合样品供给。

关于粪稀样品的采集,应考虑到不同的粪稀处理方法。对于一般的贮粪池采样,因稠度大可用灭菌采样器采集池内不同的3~5点的约25cm深处的粪稀,而三格化粪池样品应在出料口采集,样品量约300mL,置无菌广口瓶内供检验,同时应采集新鲜粪稀样品作为对照。

A.1.2 混悬液制备:将堆肥样品置于灭菌瓷盘内,去其砖瓦石块等,并剪碎尚未腐烂的有机物,充分混匀称取10g样品,放于无菌的250mL带玻璃珠的三角瓶内,加无菌水,使成100mL,即为1:10的混悬液。

对于粪稀样品则用内径约0.6cm带刻度及橡皮头吸管,吸取混摇均匀的粪稀液10mL,加入到250mL带玻璃珠的三角瓶内,加灭菌水使成100mL,即为1:10稀释液,混摇3~5min,使附在有机物及杂质上的细菌充分分离,静置1~2min,进行接种。

A.2 接种

根据样品污染的程度,决定其稀释度,为了避免所接种的不同稀释度样品的发酵均呈阳性或阴性反应,要考虑到所接种的试管有效稀释度。

A.2.1 样品稀释用1mL灭菌吸管吸取1:10混悬液1mL,注入9mL灭菌水管内,制成1:100稀释液,按同法依次稀释,制成1:1000、1:10000稀释液(每种稀释液各换一支灭菌吸管)。

A.2.2 初发酵试验:以无菌手续,用1mL灭菌吸管吸取1:10(相当0.1g样品)、1:100(相当0.01g样品)、1:1000(相当0.001g样品)、1:10000(相当0.0001g样品)稀释液各1mL,分别接种于1管单料乳糖胆盐发酵管内,每个稀释液各用1支吸管。置44.5℃培养24±2h。

A.2.3 将产酸产气或只产酸的发酵管接种于碱性品红亚硫酸钠琼脂培养基上,然后放入37℃恒温培养箱内,培养24h,挑选典型菌落(带金属光泽菌落)和非典型菌落的一半,进行革兰氏染色,如为革兰氏阴性无芽孢杆菌,再将平皿中其余的另一半菌落接种乳糖发酵管,置44.5℃培养24h,如产酸产气,即证实有粪大肠菌群存在。

A.2.4 根据发酵管的阳性管数查表,即为粪大肠菌群菌值。

GB 7959—87

表 A1 粪大肠菌群菌值计数表

接种量, g (mL)				菌 值
10	1	0.1	0.01	
-	-	-	-	> 11.1
-	-	-	+	11.1
-	-	+	-	11.1
-	+	-	-	10.5
-	-	+	+	5.6
-	+	-	+	5.3
-	+	+	-	4.6
+	-	-	-	4.3
-	+	+	+	3.6
+	-	+	+	1.1
+	-	+	-	1.0
+	-	+	+	0.6
+	+	-	-	0.4
+	+	-	+	0.1
+	+	+	-	0.04
+	+	+	+	0.04

表 A2 粪大肠菌群菌值计数表

接种量, g (mL)				菌 值
1	0.1	0.01	0.001	
-	-	-	-	1.11
-	-	-	+	1.11
-	-	+	-	1.11
-	+	-	-	1.05
-	-	+	+	0.56
-	+	-	+	0.53
-	+	+	-	0.46
+	-	-	-	0.43
-	+	+	+	0.36
+	-	-	+	0.11
+	-	+	-	0.10
+	-	+	+	0.06
+	+	-	-	0.04
+	+	-	+	0.01
+	+	+	-	0.004
+	+	+	+	0.004

表 A3 粪大肠菌群菌值计数表

接种量, g (mL)				菌 值
0.1	0.01	0.001	0.0001	
-	-	-	-	0.111
-	-	-	+	0.111
-	-	+	-	0.111
-	+	-	-	0.105
-	-	+	+	0.056
-	+	-	+	0.053
-	+	+	-	0.046
+	-	-	-	0.043
-	+	+	+	0.036
+	-	-	+	0.011
+	-	+	-	0.010
+	-	+	+	0.006
+	+	-	-	0.004
+	+	-	+	0.001
+	+	+	-	0.0004
+	+	+	+	0.0004

表 A4 粪大肠菌群菌值计数表

接种量, g (mL)				菌 值
0.01	0.001	0.0001	0.00001	
-	-	-	-	0.0111
-	-	-	+	0.0111
-	-	+	-	0.0111
-	+	-	-	0.0105
-	-	+	+	0.0056
-	+	-	+	0.0053
-	+	+	-	0.0046
+	-	-	-	0.0043
-	+	+	+	0.0036
+	-	-	+	0.0011
+	-	+	-	0.0010
+	-	+	+	0.0006
+	+	-	-	0.0004
+	+	-	+	0.0001
+	+	+	-	0.00004
+	+	+	+	0.00004

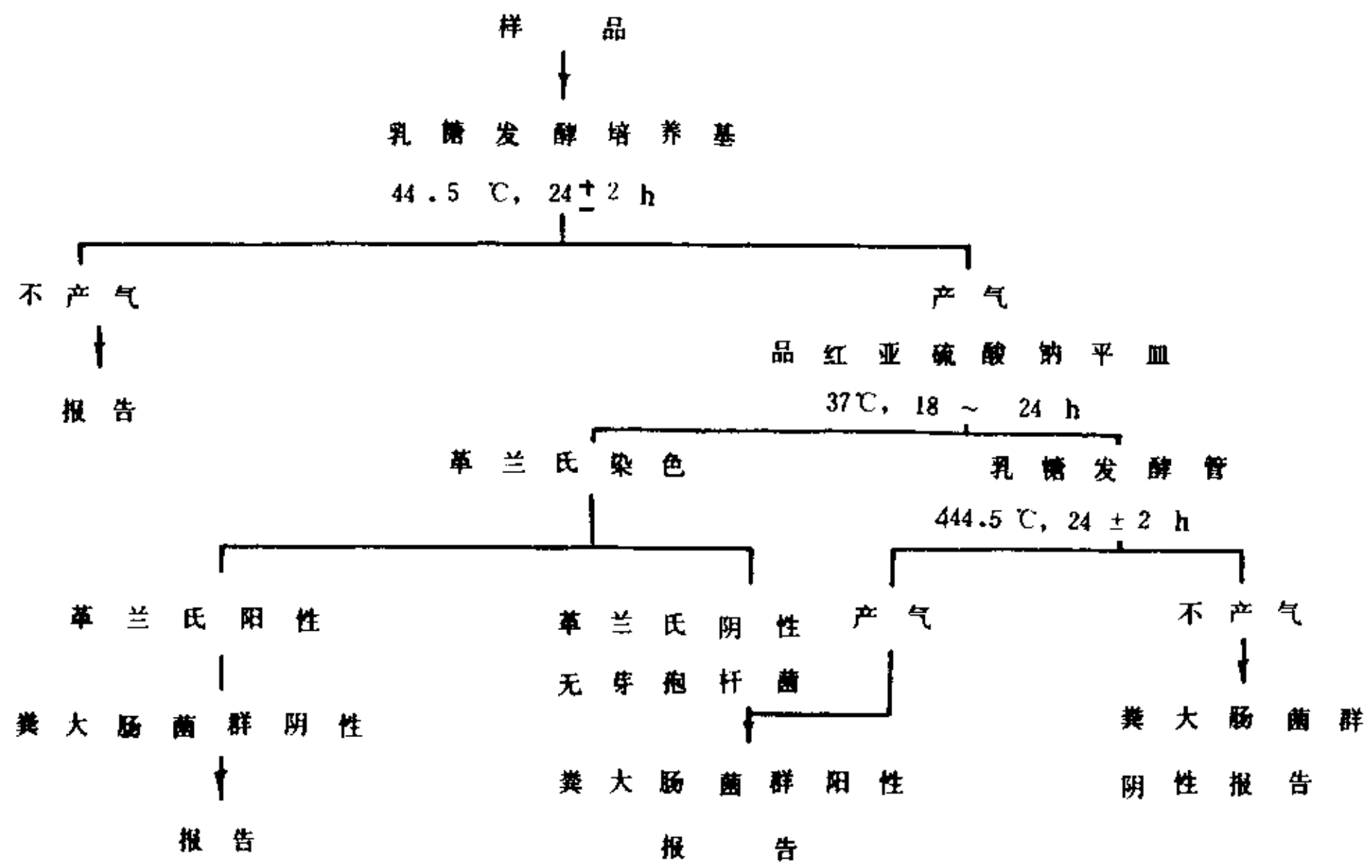
表 A5 粪大肠菌群菌值计数表

接种量, g (mL)				菌 值
0.001	0.0001	0.00001	0.000001	
-	-	-	-	>0.00111
-	-	-	+	0.00111
-	-	+	-	0.00111
-	+	-	-	0.00105
-	-	+	+	0.00056
-	+	-	+	0.00053
-	+	+	-	0.00046
+	-	-	-	0.00043
-	+	+	+	0.00036
+	-	-	+	0.00011
+	-	+	-	0.00010
+	-	+	+	0.00006
+	+	-	-	0.00004
+	+	-	+	0.00001
+	+	+	-	0.000004
+	+	+	+	<0.000004

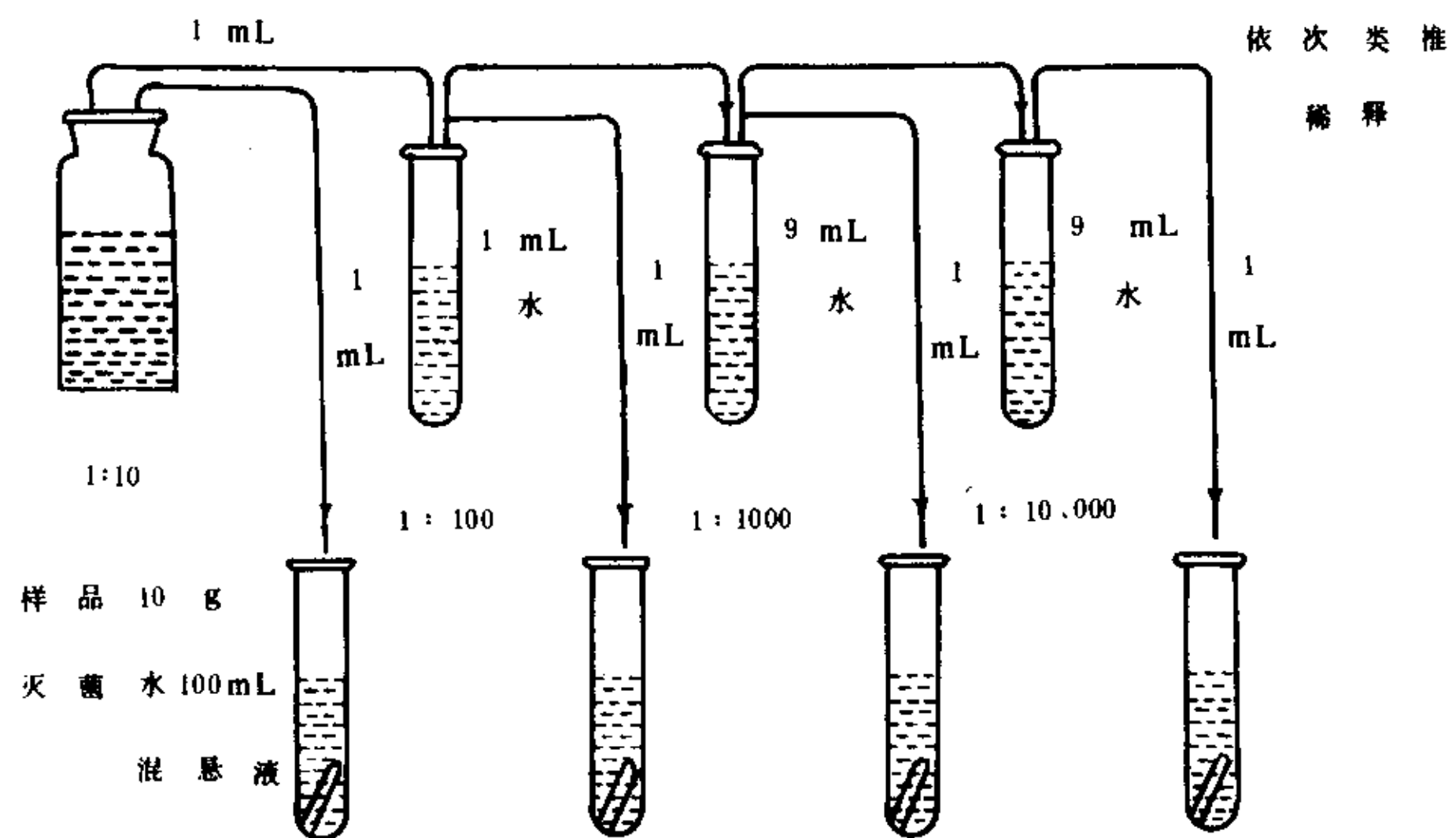
表 A6 粪大肠菌群菌值计数表

接种量, g (mL)				菌 值
0.0001	0.00001	0.000001	0.0000001	
-	-	-	-	>0.000111
-	-	-	+	0.000111
-	-	+	-	0.000111
-	+	-	-	0.000105
-	-	+	+	0.000056
-	+	-	+	0.000053
-	+	+	-	0.000046
+	-	-	-	0.000043
-	+	+	+	0.000036
+	-	-	+	0.000011
+	-	+	-	0.000010
+	-	+	+	0.000006
+	+	-	-	0.000004
+	+	-	+	0.000001
+	+	+	-	0.0000004
+	+	+	+	<0.0000004

粪大肠菌群检验程序



样品稀释和接种示意图



附录 B

堆肥蛔虫卵检查法

(补充件)

B.1 样品处理

从现场采回的许多堆肥样品，其中粪便和垃圾量的配比，各有不同，夏季因瓜果皮核烂菜等较多，有机物含量大，湿度也较高；冬季含炉灰渣等较多，无机物含量高，湿度较低；有的已经腐烂，颜色较黑，有的尚未发酵，质地较粗，无论如何，样品到达实验室后，都须先加处理。其步骤为：

B.1.1 各层样品经混匀后，分别倒于搪瓷盘内，用镊子挑去其中的夹杂物如炉渣、碎砖块、废铜、烂铁和布条等。

B.1.2 经搅匀后，称出500g，作为供检验用的样品。

B.1.3 为能查到具有代表性的堆肥蛔虫卵样品，应将此500g样品中较大的土颗粒予以压碎，用孔径2mm的铜筛过筛，收集下面筛出的较细样品，不少于100g，为避免因湿度大，筛出物少，不及100g，可预先将孔径3mm的铜筛叠在2mm的上面，用力振摇，这样，必要时可取留在孔径2mm筛上样品的一部分，凑成100g。

注：有时从现场采得的堆肥样品，多属未腐烂的蔬菜帮子、瓜果皮核和草梗等，难以筛出土粒状物。在此情况下，可把一定量的混合均匀样品，用剪子稍事剪小后，清水浸泡，继将洗液静置沉淀，而后收集沉淀物备检。

B.1.4 将经过处理的样品装于适当大小的广口瓶中，贴上标签。

注：经上述混合均匀而又有代表性的许多份堆肥样品，如一时未能全部检验完毕，则需滴加一些防腐剂如3%福尔马林溶液，或3%盐酸溶液，加盖后，放置冰箱中，目的在于防止原生动物和霉菌的繁殖，影响观察，和避免活的蛔虫卵进一步发育，难以了解采样当时的发育情况。

B.2 堆肥样品显微镜检查

检验堆肥蛔虫卵的原理，是先用碱性溶液和已经处理过的堆肥样品充分混合，分离蛔虫卵，继用比重较蛔虫卵比重大的溶液为漂浮液，使蛔虫卵漂浮在溶液的表面，从而收集检验之，或加入清水，因蛔虫卵的比重大于水的比重，使蛔虫卵沉在水底，从中吸取蛔虫卵检验之。

B.2.1 漂浮法：所用的为饱和硝酸钠溶液离心漂浮法，操作步骤类似土壤蛔虫卵检查法：

B.2.1.1 分离：称取5~10g经过处理的堆肥样品于容量50mL清洁铜离心管或塑料离心管中。注入5%氢氧化钠溶液25~30mL，另加玻璃珠约10粒，用适当大小的橡皮塞子紧塞管口，置电动振荡机上，振荡10~15min，每分钟200~300次，静置15~30min后，再行振荡，如此重复3~4次，使堆肥样品为碱性溶液所浸透，加上玻璃珠的撞击和摩擦，则混合液中的蛔虫卵，不再被粘着在一起。

B.2.1.2 漂浮：从振荡机上取下离心管，揭去橡皮塞子，用滴管吸取清水，将附着在皮塞上和管口内壁的泥状物，冲入管中，以免一小部分虫卵的漏检。而后再在离心机上离心3~5min，每分钟2000~2500转。倒去多余的氢氧化钠溶液，水洗一次，即加清水将沉淀物搅浑后，离心，倒去上面的脏水。随后加入少量饱和硝酸钠溶液（比重1.38~1.40），用玻璃棒搅成糊状后，徐徐添加饱和硝酸钠溶液，随加随搅，直加到离管口约1cm为止，此时将附在玻棒上的混合液也用一两滴饱和硝酸钠溶液，冲入管中，离心3~5min，每分钟2000~2500转，由于蛔虫卵的比重小于饱和硝酸钠溶液的比重，因此经离心后，管中的蛔虫卵，就会漂浮在硝酸钠溶液的表面。

B.2.1.3 移置液膜：用直径略小于1cm的金属丝圈（状如细菌学上所用的接种环）不断将表层液膜移于盛有半杯清水的小烧杯中，约30次后，再次搅拌和离心，适当增加一些饱和硝酸钠溶液，如此反复操作3~4次，直到液膜涂片未查见虫卵为止。

B.2.1.4 抽滤：将烧杯中含卵混悬液，通过高尔特曼氏漏斗，抽滤于直径35mm，无裂纹和孔眼的微孔火棉胶滤膜上（孔径0.65~0.80μm），混合悬液中的蛔虫卵，全部阻留在微孔滤膜上。有时由于样品中蛔虫卵数量过多，浑浊度大，不易为一张滤膜所滤过时，则可另添一或二张滤膜。

B.2.1.5 镜检：抽滤完毕，立即用眼科弯头小镊子，将滤膜从漏斗的滤台上小心取下，平铺于4×7.5cm的大型载物玻璃片上，趁湿在低倍显微镜下直接检查，最好滴加两三滴50%甘油溶液，这样，蛔虫卵在比较透明而无气泡的视野中，便于观察和计数。

B.2.2 沉淀法：水洗离心沉淀法，操作步骤如下：

B.2.2.1 水洗：称取100g经过处理的堆肥样品或一定量经过剪小的蔬菜帮子等有机堆肥的浸出沉淀物，放在500mL三角烧瓶中，加入5%氢氧化钠溶液100~150mL和三、四十粒玻璃珠，塞以橡皮塞。浸泡半小时后，振摇3~4min，将上面的液体，倒入大烧杯中，再加等量清水于三角烧瓶中，浸洗三、四次，直到洗出液透明为止。

B.2.2.2 过滤并水洗沉淀：将前后收集的洗液，用1~2层纱布过滤于1000mL锥形量杯中，静置半小时至一小时后，倒去上层液体，如此，约半小时换水一次，直至上层水澄清为止。

B.2.2.3 测定体积：用虹吸管慢慢吸去沉淀上面的液体，将沉淀物倒入刻度量筒中，测量沉淀物的容积。

B.2.2.4 镜检：将沉淀物搅浑，搅匀，迅速用1mL玻璃吸管吸取0.05和0.1mL于载玻片，盖以盖玻片（依盖玻片的大小，分别对2或3、4片不等）在低倍镜下检查并计数。

B.3 堆肥蛔虫卵数量测定法

堆肥中含有的蛔虫卵数，往往较多，用饱和硝酸钠溶液离心漂浮法时，5~10g样品中的蛔虫卵，高度集中在滤膜上，在显微镜下计数时容易混乱，因此，最好能在显微镜的目镜筒内，装上一枚目镜计数网，利用移动尺有规律的移动，逐渐数完整个滤膜上的全部蛔虫卵数。例如500g有代表性的原始堆肥样品，经挑去夹杂物并过筛后，得184g，其中的10g用饱和硝酸钠溶液离心漂浮后，在滤膜上数得蛔虫卵数为350个，则 $\frac{350}{10} \times 184 = 6440$ 个。实际上，184g的含有数，亦即代表500g原始堆肥所含有的蛔虫卵数。

在用水洗沉淀法时，需要准确测定沉淀物的容积，在用玻璃吸管吸取沉淀以供镜检时，必须搅拌均匀而后取样，而且需要连续观察若干次，而后取其平均数，从而计算1mL沉淀物的虫卵数，最后乘以沉淀总容积数，便是100g原始堆肥样品的虫卵数。

B.4 堆肥蛔虫卵生活力测定法

目前测定堆肥蛔虫卵生活力所用的方法，除了采用简单易行的直接镜检法外，普遍采用培养法，而染色法则因操作较为复杂，不如直接镜检法简便，效果不如培养法的可靠，因为未普遍采用。

B.4.1 直接镜检法：是根据蛔虫卵在发育过程中所出现的各种形态，以鉴别其死活。首先是鉴别受精卵和未受精卵，其次是鉴别有生活力和失去生活力（变性卵）的受精卵和含有幼虫卵的形态。

采用直接镜检法时，有关形态鉴别要点如下：

B.4.1.1 未受精蛔虫卵的形态：多为长椭圆形，有时呈三角形或不规则形，大小平均为80~98×40~60μm，一般为黄褐色，有时蛋白质壳发育不全，有时完全失去蛋白质壳，卵内经常充满大大小小油滴状的卵黄细胞。

B.4.1.2 受精蛔虫卵的形态：

活的受精蛔虫卵的形态：蛋白质壳为黄褐色，脱去蛋白质壳的为无色透明；平均大小为50~70×40~50μm；外层卵壳厚，内层壳薄，有屈光性，最外层的蛋白质壳也很厚，呈乳状或花纹状突起，卵内有一个球形的卵细胞，卵壳两端和卵细胞之间，有半月形的空隙，卵内的卵黄颗粒清晰而致密。

死受精蛔虫卵（变性卵）的形态：

卵细胞移向一端，致使卵壳两端呈现有大小不等的半月形空隙。

卵内脂肪变性，形成空泡，很像未受精卵，高温堆肥样品中卵内的空泡尤为显著。

卵细胞颗粒减少或消失。

卵细胞质浑浊，呈黑色或棕黑色。

卵细胞向不定部位呈球状收缩。

卵壳的一侧或两侧，一端或两端向内凹陷或破裂。

只有蛋白质壳，而缺内容物。

B.4.1.3 含有活幼虫卵的形态：

虫体的前后部没有颗粒，中部颗粒清晰而有金属光泽，有立体感，镜检时，注视或轻压，可见有轻微蠕动，强压后，有时可挤出幼虫。

B.4.1.4 含有死幼虫卵的形态：

幼虫体内几乎充满颗粒，且模糊不清，无金属光泽，缺乏立体感，镜检时注视之，久久不见蠕动，稍稍加热或轻压，不会蠕动；强压时，虽能挤出幼虫，但也不改变其原来的卷曲状态。

以上所列是死活蛔虫卵的一般形态，在镜检中有时会遇到外形发生变化的畸形活卵和各种形态的未受精卵，以及容易误认为寄生虫卵的异物。

B.4.2 滤膜培养法：把上述通过饱和硝酸钠溶液离心漂浮后收集在滤膜上的蛔虫卵，经过计数后，直接用来培养，称为滤膜培养法。

滤膜培养法测定蛔虫卵生活力的操作步骤如下：

B.4.2.1 在直径10~12cm的玻璃平皿的底部平铺一层厚约1cm的脱脂棉（或微孔塑料），脱脂棉上铺一张直径与平皿等大的普通滤纸。

B.4.2.2 为防止霉菌和原生动物的繁殖，可加入2~3%甲醛溶液或甲醛生理盐水，以湿透滤纸和脱脂棉。

B.4.2.3 把含卵滤膜平铺在皿中滤纸上，加盖，并在皿盖上编号。一个平皿可同时放上几张滤膜，互不接触。

B.4.2.4 把平皿放在24~26℃的恒温箱中培养一个月，培养过程中经常滴加清水或2~3%的甲醛溶液，使滤膜保持潮湿状态。

注：堆肥样品中的蛔虫卵，因受温度的影响，死卵的形态变化比较显著，往往培养不到一个月，即能明确判定为死卵，无需继续培养。

B.4.2.5 培养一个月后自皿中取出滤膜置于载玻片上，滴加50%甘油溶液，使其透明后，在低倍镜下查找蛔虫卵，然后在高倍镜下，根据形态，鉴定卵的死活，并加以计数。镜检时有时会感到视野的亮度和滤膜的透明度不够理想，则可在一张载物片上，滴一滴清水，另用一张盖玻片从滤膜上刮下少许含卵滤渣，与水混合搅匀，盖上同一盖玻片进行镜检，或是在载玻片上滴1~2小滴30%安替福尼液代替清水，蛔虫卵外面的蛋白质壳很快被溶解掉，内部构造便于观察。凡含有幼虫的，都认为是活卵，其他阶段的或单细胞的，都判为是死卵。

附录 C

粪稀蛔虫卵检查法

(补充件)

C.1 样品处理

自密闭化粪池或沼气发酵池等不同类型的粪池中采集的粪稀样品,因为是分别采自进出料口以及上下不同的层次,所以样品有稀有稠,稀者状如水样,稠者形若污泥和新鲜粪便。样品送到实验室后,不论稀稠,均应尽快倒于适当大小的玻璃容器内,加以搅拌均匀,而且在搅拌的同时,用镊子挑去浮在上面的或混在其中肉眼所能看到的夹杂物。

C.2 粪稀样品显微镜检查

粪稀样品经过如上的处理后,进一步进行蛔虫卵的检验工作,包括定量检验蛔虫卵的数量测定和定性检验(蛔虫卵生活力的测定)。

C.2.1 粪稀蛔虫卵数量测定法

沼气池等进料口的样品,因为稠度较大,适于采用稀释法。而出料口的样品,由于较稀,则以采用浓缩法为佳。

C.2.1.1 稀释法: 采用的有两种方法,即滤膜法和司徒氏法。

C.2.1.1.1 滤膜抽滤稀释计数法操作步骤如下:

C.2.1.1.1.1 取混匀的进料口粪稀100mL,加水稀释至300~500mL。

C.2.1.1.1.2 用60孔的金属筛子过滤于500mL锥形量杯中,静置30min。

C.2.1.1.1.3 倒去沉淀上部的液体,将沉渣移入50mL离心管中,离心3min,每分钟2000转。

C.2.1.1.1.4 倒去上清液,加入20mL 5%氢氧化钠溶液或30%安替福尼溶液。

C.2.1.1.1.5 每隔10min用玻璃棒搅拌均匀,以促进蛔虫卵和杂质的分离。

C.2.1.1.1.6 1h后,加水近满,经搅拌后,离心3min后,弃去上部碱性溶液。

C.2.1.1.1.7 加入饱和硝酸钠溶液或饱和食盐水,搅拌后,离心3~5min,每分钟2000~2500转。

C.2.1.1.1.8 用玻璃吸管吸取漂浮液,放置于盛有清水的小烧杯中。

C.2.1.1.1.9 将此含卵混悬液抽滤于1张滤膜上(滤膜规格同堆肥蛔虫卵检查法)。

C.2.1.1.1.10 在显微镜下计算全滤膜上的蛔虫卵数,该数即代表原100mL进料口粪稀中的蛔虫卵数。

C.2.1.1.2 司徒(Stoll)氏虫卵稀释计数法: 其原理系将定量(重量或容积均可)的稠粪样品,稀释为定量的稀释液,经混合均匀后,从中再吸出一定量的稀释液,在显微镜下,计数其中含有的蛔虫卵。然后按稀释的倍数,计算出该稀释液中的卵数,最后换算成单位重量或容积原样品中含有的蛔虫卵数。具体操作为:

C.2.1.1.2.1 用一支100mL硬质玻璃试管,在容水45mL处作一标志或刻度。

C.2.1.1.2.2 称取3g搅匀的粪稀样品,装入试管中,注入1/10当量的氢氧化钠溶液至45mL标志或刻度处,另加十数粒玻璃珠。

C.2.1.1.2.3 用橡皮塞子紧塞管口后,极力振摇,使成均匀的混合液为止。如样品中含有粪块,最好放置过夜,使有足够的消化时间。

C.2.1.1.2.4 翌晨在计数前再把它摇匀。摇后速用1mL刻度吸管,吸取混合液0.15mL于大型载物片(37~75mm)上,盖以22×40mm的盖玻片(如缺大载物片,则将吸出的0.15mL混合液分滴于2~3张一般大小的载物片上,盖以10~18mm的盖玻片亦可)。

C.2.1.1.2.5 然后在低倍显微镜下数完0.15mL 混悬液中所有的蛔虫卵数，将所数得的卵数乘以100，即为每克粪稀中所含有的蛔虫卵数。

如样品稍稀，不用玻璃试管，改用100mL 三角烧瓶亦可，在容积60mL 处，刻一刻度，取混匀的粪稀样品4 mL 于此刻度烧瓶中，注入1/10当量的氢氧化钠溶液，至60mL 刻度处，再放入十粒玻璃珠，用橡皮塞紧塞瓶口，极力振摇，直至混合液呈均匀状态为止。然后吸取0.15mL 混合液于载玻片上，盖以盖玻片，并在低倍镜下进行蛔虫卵计数，将所得的卵数乘100，即是每毫升粪稀中所含有的蛔虫卵数。

C.2.1.2 浓缩法：由于蛔虫卵的比重大于水的比重，在水中容易下沉。沼气池出料口粪稀含水多，粪便较少（水与粪便之比，约为20:1），因此，含蛔虫卵量相应也少，上层粪稀含卵量当更少。检查时，可采用自然沉淀法和滤膜抽滤法两种方法。分别如下：

C.2.1.2.1 自然沉淀法：

C.2.1.2.1.1 取出料口上层粪稀3000~4000mL，下层粪稀1000~2000mL，分别用60目铜筛过滤于1~2个2000mL 锥形量杯中，让其自然沉淀。

C.2.1.2.1.2 经1 h后，倒去沉渣上层的液体，另换清水，搅浑后，静置，让其自然沉淀。

C.2.1.2.1.3 反复水洗沉淀，至沉渣上面的水接近无色和澄清后，弃去上清液。

C.2.1.2.1.4 将沉渣倒入100mL 量筒中，测量沉渣的容积。

C.2.1.2.1.5 经充分搅拌后，用1 mL 玻璃吸管，迅速吸取沉渣0.1mL 于载玻片上，盖以盖玻片。

C.2.1.2.1.6 在低倍显微镜下，作蛔虫卵计数。

C.2.1.2.1.7 反复检查几次后，取其平均数，从而推算原100mL 粪稀中所含有的蛔虫卵数。

C.2.1.2.2 滤膜抽滤法：

C.2.1.2.2.1 将出料口不同层次采得的定量粪稀样品，用60目铜筛过滤。

C.2.1.2.2.2 除比较混浊需要反复水洗沉淀外，可直接抽滤于滤膜上。

C.2.1.2.2.3 将滤膜平铺在大型载玻片上，加透明剂后，在显微镜下，作蛔虫卵计数，从而计算出每100mL 粪稀中蛔虫卵含有数。

C.2.2 粪稀蛔虫卵生活力测定法

C.2.2.1 滤膜培养法：将上面进行蛔虫卵计数所用过的滤膜，放在培养皿中，于24~26℃下培养一个月，然后从滤膜上刮下沉渣，镜检100~200个蛔虫卵，其中发育到幼虫期者，认为是活卵，其他各期均视之为死卵。

C.2.2.2 清水培养法 操作如下：

C.2.2.2.1 将通过水洗沉淀所得的含卵沉渣，倒入10mL 离心管内。

C.2.2.2.2 离心3 min，每分钟2000转。

C.2.2.2.3 倒去上清液，注入饱和食盐水，搅拌后，离心漂浮3 min，转速同前。

C.2.2.2.4 用毛细吸管吸取液面漂浮物于另一离心管内，加清水，经搅拌后，以如上的转速，离心1~2min。

C.2.2.2.5 吸去上清液，再加清水2~4 mL 搅浑管底的沉淀，加5%福尔马林溶液1~2滴。

C.2.2.2.6 置24~26℃温箱中培养一个月，在培养过程中每日换水。

C.2.2.2.7 培养完毕，用玻璃吸管吸取沉淀物，做成涂片，在显微镜下观察并计数100~200个蛔虫卵，将发育为幼虫期的，认为是正常的活卵，其他形态者，都认为是发育不良卵或死卵。

附录 D

粪稀钩虫卵检查法 (补充件)

在粪稀中检查钩虫卵，可以直接从粪稀样品中检查虫卵，或通过培养，间接检获钩虫幼虫。其步骤可分为：

D.1 样品处理：参照粪稀蛔虫卵检查法。

D.2 粪稀样品显微镜检查：步骤大致同粪稀蛔虫卵检查法。稠的样品用稀释法，稀的用浓缩法。

D.2.1 钩虫虫卵的检查

D.2.1.1 稀释法：除可采用滤膜法和司徒氏法（参见粪稀蛔虫卵检查法）外，也可采用水洗沉淀法。是因为钩虫卵的比重（1.06）大于水的比重，在水中会逐渐下沉。操作如下：

D.2.1.1.1 依粪稀样品稀稠度的不同，称取样品 3 ~ 5 g，放在烧杯中，先加少量清水，充分搅拌均匀，然后陆续加水，使成混悬液。

D.2.1.1.2 用 1 ~ 2 层纱布过滤于 500 mL 锥形量杯中，加水到近杯口。

D.2.1.1.3 经 1 h 后，倒去上液，另换清水，搅浑后，静置之，使其自然沉淀。

D.2.1.1.4 半小时后，再弃去上清液，反复进行到上面的水接近无色和澄清。

D.2.1.1.5 弃去上清液，将沉渣倒入量筒中，测定沉渣的容积。

D.2.1.1.6 充分搅拌后，迅速用 1 mL 玻璃吸管吸取沉渣 0.1 mL，放在载玻片上，加盖玻片（必要时可分成 2 片）。

D.2.1.1.7 在低倍镜下检查，并作虫卵计数。

D.2.1.1.8 反复检查 10 片后，算出每 0.1 mL 沉渣中虫卵平均数。最后再计算单位容积粪稀中的钩虫卵数。

D.2.1.2 浓缩法：亦可采用自然沉淀法和滤膜抽滤法。详见粪稀蛔虫卵检查法。

D.2.2 钩虫幼虫的检查

D.2.2.1 小试管培养法，操作如下：

D.2.2.1.1 用剪刀把滤纸裁成 9 × 1.5 cm、边缘光滑的长纸条。

D.2.2.1.2 于 10 × 1 cm 的小试管中加入清水 1 ~ 2 mL。

D.2.2.1.3 沿纸条长径，将滤纸左右对折，再摊平。

D.2.2.1.4 用吸管吸取粪稀或其沉淀物，涂抹于纸条的中上段（面积约为 4 × 1.3 cm）。

D.2.2.1.5 滤纸下面垫以吸水性强的粗草纸，以便吸去多余的水分。

D.2.2.1.6 将涂有粪稀的纸条插入小试管中，下端浸入水里，而水又不接触粪稀。

D.2.2.1.7 管口外面贴上样品号，并用纸包严，以防污染。

D.2.2.1.8 把试管放置 25 ~ 30℃ 恒温箱中培养。

D.2.2.1.9 每天加水，防止干燥。

D.2.2.1.10 培养 5 天后取出，在光线下用肉眼或放大镜，观察管底水中有否乳白色，呈蛇形状活动的钩蚴。或将管内水倒入平皿中。

D.2.2.1.11 将 45 ~ 48℃ 温水倒满试管中，静置 20 min，钳弃纸条，再静置沉淀半小时，倒去上层液体，把沉淀物倒入另一平皿内。

D.2.2.1.12 用碘液杀死两个平皿中的钩蚴并使之染色。也可加入 10% 盐水，稍事沉淀，以杀死粪池中自由生活线虫。

D.2.2.1.13 在显微镜下作钩蚴计数。

D.2.2.2 双重平皿滤纸培养法，操作如下：

D.2.2.2.1 取大小两个平皿，小的直径约6cm，大的直径约10cm，将小平皿的底及周围用滤纸包裹后，皿底朝上，口朝下，安放在大平皿的中央。

D.2.2.2.2 称取粪稀约30g，经过水洗沉淀后，把含卵粪渣放在小平皿底的滤纸上，放在28℃恒温箱中培养。

D.2.2.2.3 每日加水，防止滤纸干燥。

D.2.2.2.4 三日后，在大平皿内加水。以后每天检查并加水，保持水深3~4mm。

D.2.2.2.5 5~7天后取出，于大平皿中滴加碘液，在解剖镜下，作钩蚴检查并计数。

钩虫、粪类圆线虫、东方毛圆线虫丝状蚴鉴别要点

要 点	钩 虫	粪类圆线虫	东方毛圆线虫
蚴体长度	0.5~0.7mm	0.5mm	0.75mm
食道长度	占体长1/5	占体长1/2	占体长1/4
生殖原基	位于蚴体中部	位于蚴体后部	
尾 端	尖细	分叉	钝圆，有小球状物

附录 E
粪稀中血吸虫卵检查法
(补充件)

粪稀血吸虫卵的检验, 可以用沉淀法在显微镜下找虫卵, 用孵化法找毛幼。

E.1 沉淀法

操作方法如下:

E.1.1 取粪稀样品约30g, 放于烧杯或搪瓷杯中, 加水调成糊状。

E.1.2 通过40~60目铜丝筛, 滤入500mL 锥形量杯中, 加水近满。

E.1.3 静置20~30min后, 待沉渣沉淀, 倒去上层粪水, 保留沉渣约30mL, 换加清水至原刻度处。以后每隔20~30min, 换水一次。直到上浮液澄清为止。因为血吸虫卵必须入水才能孵化。而且在清水中较易孵化, 所以粪稀必须冲洗至上浮液澄清为止。

E.1.4 经3~4次换水后, 用玻璃吸管吸取沉渣, 作成涂片, 镜检有无血吸虫卵。图片的面积约占玻片面积的2/3, 其厚度以能透过涂片看清报纸上的印刷字体为标准, 过厚时可加清水1~2滴稀释之。

E.1.5 一般要求每份粪稀, 至少观察3张涂片, 每张涂片观察时要有规律, 镜检时间应不少于2min, 仔细分清血吸虫卵和其他蠕虫卵, 并与粪稀中常见的异物, 如植物细胞等相区别。

E.1.6 如连续镜检沉渣涂片三张, 未发现有血吸虫卵时, 将全部沉渣倒入250mL 三角烧瓶(作为孵化瓶)中, 加水近满, 进行孵化。

E.2 孵化法

孵化法是依据血吸虫卵内的毛蚴在适宜条件下很快孵出, 并游动于水表面下的特性。方法如下:

E.2.1 取约30g粪稀样品, 先经沉淀法浓集处理, 继将处理的粪稀沉渣倒入250mL 三角烧瓶内, 加入清水至瓶口。城市中需用去氯水, 或把自来水放置过夜, 促其自然脱氯, 或在水中加入少量硫代硫酸钠(每40kg水中, 加入10%硫代硫酸钠溶液1mL)以除去余氯。在无自来水的地区, 用河水或井水作为孵化用水时, 将水加温到70~80℃, 待冷后再用, 以免与水中原生动物相混淆, 影响观察。

E.2.2 置20~30℃下进行孵化。毛蚴孵化最适宜的温度为25~30℃, 如在10℃以下或37℃以上, 则毛蚴不能孵出。孵化所需的时间, 30℃以上, 1~3h; 25~30℃, 4~6h; 25℃以下, 需过夜, 气温在15℃以下时, 40h左右。故在4、12和24h后, 用肉眼或放大镜观察一次。观察时, 眼齐孵化瓶口, 对着光, 瓶后衬以黑色纸作背景, 检查近瓶口1~3cm处, 如见水面下有白色点状物, 作直线来往游动, 遇到阻碍时, 立即转变方向者, 即是毛蚴, 但需与水中一些原生动物如草履虫等相区别。草履虫的运动, 呈螺旋样摇摆或滚动, 必要时可用吸管将毛蚴吸出, 在显微镜下鉴别。

注意: 气温高时毛蚴迅速孵出, 在自然气温25℃以上的季节, 毛蚴有在沉淀过程中孵出而随换水被倒去的可能, 因此应严格掌握换水的时间, 避免因换水倒去毛蚴。在这种情况下, 可用1~1.2%食盐水代替清水作沉淀, 暂时抑制毛蚴孵出, 而在更后一次沉淀时, 再换清水进行孵化。

水的酸碱度会影响毛蚴孵化, 孵化用水以弱碱性为宜, pH在7.2~7.6范围内。

表 E1 蠕虫卵和非蠕虫卵物质的区别

虫 卵	非 虫 卵
边缘整齐 蛋形 (除绦虫卵外) 浅黄或棕黄色 (除蛲虫卵、膜壳绦虫卵外) 内有幼虫或胚细胞 可有小盖或侧盖	不整齐 不规则 白色或黄色 无 无

表 E2 血吸虫毛蚴与原生动物的区别

血 吸 虫 毛 蚴	原 生 动 物
形状: 针尖状 颜色: 透明发亮, 有折光 活动形式: 横游或斜游, 直线前进 活动范围: 一般在水面下 1 ~ 3 cm	扁形或圆形 灰白或灰黄色, 无折光 螺旋式或摇摆状, 或跳跃式, 上下游动 范围不限

附加说明:

本标准由中华人民共和国卫生部提出。

本标准由中国预防医学科学院环境卫生与卫生工程研究所负责起草。

本标准主要起草人潘顺昌、严秀宜、潘长庆。

本标准经全国卫生标准技术委员会环境卫生标准分委会评审通过。

本标准由中国预防医学科学院环境卫生监测所负责解释。