

病原学和血清学检验方法在大山区血吸虫病流行区的应用

陈绍荣¹, 陈凤¹, 周晓农², 李宏军³, Peter Jacob Steinmann⁴, 杨忠¹, 李远林¹

[摘要] **目的** 了解血吸虫病病原学及血清学检测方法在大山区流行区应用的效果, 为制定防治对策提供科学依据。 **方法** 采用随机抽样法在大山区血吸虫病未控制县抽取流行程度轻、中、重的 1 个自然村, 每村抽取 35 户作为调查对象。采用孵化法及 Kato-Katz 法进行病原学检查, 同时采用检测抗体的 ELISA 和 DDIA 法对受试者进行血清学检查。 **结果** 总感染率为 8.26% (29/351), 孵化法三送三检与 Kato-Katz 法三送十二检 2 种病原学检查方法差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.831$, $P > 0.05$), 孵化法一送一检与 Kato-Katz 法一送四检差异也无统计学意义 ($\chi^2 = 0.313$, $P > 0.05$)。不同流行程度村的查病结果 Kato-Katz 法差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.188$, $P > 0.05$), 孵化法差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.203$, $P < 0.05$), DDIA 和 ELISA 法在不同流行程度村的查病结果间差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 22.936, 36.282$, P 均 < 0.01)。ELISA、DDIA 2 种血清学筛检方法的敏感性、特异性和约登指数分别为 65.52%、59.35%、0.25 和 44.83%、69.79%、0.15。ELISA 法优于 DDIA 法 ($\chi^2 = 19.253$, $P < 0.01$)。ELISA 结果与粪检有关联, 但一致性较差 ($\chi^2 = 5.772$, $P < 0.05$, $Kappa = 0.076\ 762$), DDIA 结果与粪检无关联 ($\chi^2 = 2.019$, $P > 0.05$)。 **结论** 防治实际工作中采用收集一次粪便孵化或制作三张 Kato-Katz 片, 分别有 62.07%、72.41% 的感染者漏检, 必将严重低估病情现状。检测血吸虫抗体的 ELISA 和 DDIA 2 种血清学筛查方法将漏检 34.48%、55.17% 感染者, 成为血吸虫病病情反弹的原因之一。

[关键词] 血吸虫病; 诊断; 病原学; 血清学; 大山区

[中图分类号] R532.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-2116(2007)01-0001-04

Comparison of Aetiological and Serological Diagnosis Methods
in Schistosomiasis Mountainous Endemic AreaCHEN Shao-rong¹, CHEN Feng¹, ZHOU Xiao-nong², LI Hong-jun³,
Peter Jacob Steinmann⁴, YANG Zhong¹, LI Yuan-lin¹

(1. Institute of Schistosomiasis Control and Prevention of Dali Prefecture Dali 671000, Yunnan Province China;

2. Institute of Parasitic Diseases Chinese Center for Disease Control and Prevention Shanghai China;

3. Anti-schistosomiasis Station of Eryuan County Yunnan Province

4. Swiss Institute of Tropical Diseases Switzerland)

Abstract **Objective** To compare the diagnostic effect of immunoassays collective egg incubation and Kato-Katz methods so as to provide scientific strategy for schistosomiasis control. **Method** 3 villages with hypo-, meso- and hyper-endemic level were selected by random sampling from an uncontrolled county, and 35 households per village were selected as study object. ELISA and DDIA assays egg incubation and Kato-Katz meth-

ods were conducted and compared. **Result** The positive rate was 8.26% (29/351) of aetiological diagnosis. There were no significant differences between 3 feces samples 3 examinations of egg incubation method and 3 feces samples 12 smears of Kato-Katz method ($\chi^2 = 1.831$, $P > 0.05$), or between 1 feces sample 1 examination of incubation method and 1 feces sample 4 smears of Kato-Katz method ($\chi^2 = 0.313$, $P > 0.05$). In three villages

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 30590370)

作者单位: 1. 大理州血吸虫病防治研究所 (云南 大理 671000)

2. 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所

3. 云南省洱源县血吸虫病防治站

4. 瑞士热带病研究所

作者简介: 陈绍荣 (1970—), 男, 本科, 主管医师, 从事疾病预防控制与行政管理工作。

通讯作者: E-mail: dlxfes@163.com 电话: 0872-2125107

with different endemic levels there were no significant differences in Kato-Katz method ($\chi^2 = 2.188$, $P > 0.05$), but there were significant differences in egg hatching method ($\chi^2 = 7.203$, $P < 0.05$), ELISA and DDIA ($\chi^2 = 22.936$, 36.282 , $P_{all} < 0.01$). The sensitivity, specificity and Yorden Index of ELISA were 65.52%, 59.35% and 0.25, of DDIA were 44.83%, 69.79% and 0.15, respectively. ELISA was better than DDIA ($\chi^2 = 19.253$, $P < 0.01$). ELISA had correlation with feces examination but consistency was weaker ($\chi^2 = 5.772$, $P < 0.05$, Kappa = 0.076 762). DDIA had no correlation with feces examination ($\chi^2 = 2.019$, $P > 0.05$). Conclusion The false negative rate of accustomed examination method i.e. 1 feces sample of hatching method or 1 feces sample 3 smears of Kato-Katz were 62.07% and 72.41% and that of ELISA and DDIA were 34.48% and 55.17%, and misdiagnosis would be one of the reasons of epidemic situation rising

Key words: schistosomiasis; diagnosis; aetiology; serology; mountainous endemic area

血吸虫病的诊断在血吸虫病防治工作中始终处于中心位置,但迄今为止,寄生虫学检查,从流行区人粪中查见虫卵,仍是血吸虫病唯一的确定诊断途径和手段^[1]。大山区血吸虫病流行具有高感染率、低感染度的特点^[2],目前防治实践中通常采用尼龙绢集卵孵化法和改良加藤厚涂片法(Kato-Katz法)确诊血吸虫病患者,由于受方法本身的敏感性和其他干扰因素的影响,两种方法的检查结果都不能如实反映实际患病人数^[3],加之,连续多年的扩大化疗,进一步降低人群虫荷及感染度,以及药物对血吸虫的排卵及对卵的孵化的抑制作用^[4],不可避免地降低了粪检的检出率,为准确评估云南省大山区血吸虫病疫情现状和目前逐渐推广的免疫诊断方法在大山区血吸虫病流行区的应用价值,于 2005—11/12 开展了本次调查,现将结果报告如下。

1 对象与方法

- 1.1 调查对象 在云南省大山区血吸虫病未控制县一洱源县的坝区选取 3 个经济社会及生产、生活习惯基本相同的血吸虫病流行行政村,流行程度分别为轻、中、重,再从中随机抽取 1 个自然村,每村随机选取 35 户,对每户 5 岁以上常驻居民作为调查对象。
- 1.2 方法 按调查实施细则统一培训调查人员,统一调查技术后,入户对调查对象进行经济收入、生产生活习惯及血吸虫病相关危险因素问卷调查,采集静脉血并在现场分离血清,连续 3 d 收集粪便。

采用 Kato-Katz 法,将每天收集的粪便制作一式四片,由经过严格专业培训并有长期阅片经验的专业人员阅片,之后采用尼龙绢集卵孵化法进行孵化检查。阅片及孵化结果经资深高级专业人员抽查 5%,保证符合率 99.5% 以上。

采集的静脉血分别采用检测抗体的 ELISA 和 DDIA 进行检验;ELISA 采用深圳康百得生物科技有限公司生产的 ELISA 试剂盒,批号 20051102,胶体染料试纸条法 DDIA (dipstick dye immuno assay) 采用江苏省血吸虫病防治研究所科技部生产试剂盒,有效期至 20060609。

按任意一片 Kato-Katz 片查到血吸虫卵和任意一次孵化结果阳性者确诊为血吸虫感染者,并假设连续 3 d 的 Kato-Katz 片和孵化检查已经将调查对象中所有血吸虫病患者检出。

分别计算 2 种血清学筛选的敏感性和特异性并计算约登指数,分别计算 2 种病原学检出方法每次的检出率和漏检率。

资料采用 Excel 2003 双录入,并经逻辑核对无误,采用 PEMS 3.1 统计软件分析。

2 结果

2.1 基本情况 共调查 388 人,采集血样 365 人,收集到粪便的 370 人。按参与调查,采集到血样并至少送交一次粪便者为合格样本,共计 351 人进入统计。基本情况见表 1。

表 1 调查对象基本情况

调查村 代码	流行 程度	调查 人数	采集血 样 份	收集 粪便数	合格 样本数	粪检 阳性数	感染率 /%
2	轻	125	111	108	107	4	3.74
5	中	139	134	131	128	11	8.59
12	重	124	120	131	116	14	12.07
合计		388	365	370	351	29	8.26

2.2 粪检结果 共查出感染者 29 人,确诊检出的方法及时间见表 2。根据 WHO 感染度分级标准,全部确诊感染者均属轻度感染 ($EPG < 4 \sim 96$)。

表 2 不同病原学检查方法三送三检阳性检出率比较						
方法	粪孵化法		Kato Katz 法		χ^2 值	P 值
	阳性数	%	阳性数	%		
一送一检	11	37.93	8	27.59	0.313	0.576
二送二检	18	62.07	10	34.48	3.383	0.066
三送三检	21	72.41	15	51.72	1.831	0.176

孵化法三送三检与 Kato Katz 法三送十二检 2 种病原学检查方法差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.831, P > 0.05$),而按大山区血吸虫病防治现场工作常用的孵化法一送一检与 Kato Katz 法一送四检差异也无统计学意义 ($\chi^2 = 0.313, P > 0.05$)。

2.3 不同流行程度村血清学方法与病原学方法查病结果 Kato Katz 法、孵化法、DDIA 和 ELISA 的阳性率依次为 4.27%、5.98%、33.05%、44.44%;血清学方法和病原学方法检测的阳性率与疫情流行程度有关,不同流行程度村的查病结果 Kato Katz 法差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.188, P > 0.05$),孵化法差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.203, P < 0.05$),DDIA 和 ELISA 间差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 22.936、36.282, P$ 均 < 0.01),ELISA 的阳性检出率高于 DDIA ($\chi^2 = 19.253, P < 0.01$),见表 3。

表 4 2 种免疫诊断方法与粪检结果比较						
检查方法		粪 检		合计	χ^2 值	P 值
		阳性人数	阴性人数			
ELISA	阳性人数	19	137	156	4.793	0.029
	阴性人数	10	185	195		
DDIA	阳性人数	13	103	116	1.445	0.229
	阴性人数	16	219	235		

3 讨论

2 种现场常用的病原学检验方法,其检出率在统计学上差异无统计学意义,可根据现场实际灵活选择,但根据直线回归分析,要检出所有感染者,孵化法需要 29 d(次)、Kato Katz 法仍然需要 29 d(每天一检,每检 4 片)方能将患者全部查出,因而在现场实际工作中显得不可行。本次实验采用的病原学检查方法由于检验次数多和耗时长,无法在现场大规模使用,虽然检出率高,但一是效率低、成本高,二是花费大量的人力、物力,同时将降低查病对象的依从性。实际工作中多采用收集一次粪便孵化或制作三张 Kato Katz 片,按照本次调查的结果,分别有 62.07%、72.41% 的感染者漏

表 3 血吸虫病血清学方法和病原学方法检测比较				
流行程度	病原学阳性率 /%		血清学阳性率 /%	
	Kato Katz 法	孵化法	DDIA	ELISA
轻	1.87 (2 /107)	1.87 (2 /107)	14.95 (16 /107)	20.56 (22 /107)
中	5.47 (7 /128)	5.47 (7 /128)	39.84 (51 /128)	52.34 (67 /128)
重	5.17 (6 /116)	10.34 (12 /116)	42.24 (49 /116)	57.76 (67 /116)
合计	4.27 (15 /351)	5.98 (21 /351)	33.05 (116 /351)	44.44 (156 /351)
χ^2	2.188	7.203	22.936	36.282
P	>0.05	<0.05	<0.001	<0.001

2.4 血清学检查结果与病原学检查结果 以粪检为“金标准”,ELISA、DDIA 2 种血清学筛检方法的敏感性(真阳性率 sensitivity)、特异性(真阴性率 specificity)和约登指数(Yorden's index)分别为 65.52%、59.35%、0.25 和 44.83%、69.79%、0.15。各项指标 ELISA 法优于 DDIA 法。ELISA 结果与粪检有关联,但一致性较差 ($\chi^2 = 5.772, P < 0.05, Kappa = 0.076\ 762$),Kappa 值的 95% 可信区间: 0.013 662~0.139 862,DDIA 结果与粪检无关联 ($\chi^2 = 2.019, P > 0.05$),见表 4。

检,导致检出结果偏低,严重低估病情现状。
按全国血吸虫病综合治理重点项目查病化疗技术方案开展现场工作时,由于粪检阳性率的低估,将使流行村的分类偏低,特别是部分二类村被划定为三类村开展血清学查病,而 ELISA 和 DDIA 2 种常用的血清学筛查方法将漏检约 34.48%、55.17% 的感染者,漏检的感染者未得到及时化疗,将作为传染源长期存在,降低了人群化疗效果,成为血吸虫病病情反弹的原因之一。
2 种血清学筛查方法其敏感性、特异性和约登指数均较湖区低^[5]。是否由于 2 种血清学检查方法都是基于对机体产生的血吸虫抗体检测,由于大山区血

吸虫与湖区血吸虫分属不同地域株,其抗体可能会有所差别导致,有待进一步探讨。

大山区血吸虫病流行有高感染率、低感染度的特点,其中间宿主光壳钉螺与湖区也有明显区别,大规模血吸虫病防治中连续多年的扩大化疗必然使血吸虫的排卵及卵的孵化受到抑制,导致病原学的检出率偏低。

因此,一方面应加大针对大山区血吸虫病地域株免疫诊断试剂盒的研制与开发,提高敏感性和特异性,最大限度筛查出感染者作为化疗目标人群;另一方面各地应适时监测各种病原学检查的漏检率,及时校正居民感染率,准确评估病情现状,才能准确选用防治对策,从根本上控制传染源。此两点在当前大山区血吸虫病控制工作中具有现实意义。

参与现场调查工作的还有:方文、王尚位、马俊华、刘榆华、段玉春、范崇政、杨慧、黄明皓、殷关麟、罗秉荣、字永光、王文辉、戴文新、陈大海、杨琳、姚素华、宋进云、方灿海、许静、李兰花、贾铁武、王显红、吕山、李雄斌、起云亮、宋翠英、杜志英、施

幼萍、罗梅娟、陈立群、周鹏利、罗马丽、罗瑞娟、陶芸等同志,特此一并致谢!

4 参考文献

- [1]吴观陵.我国血吸虫病免疫诊断发展的回顾与展望[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2005,23(5 suppl):323-328.
- [2]陈德基,张显清,王秀芬,等.云南省血吸虫病流行现状调查分析[A].王环增.血吸虫病研究资料汇编(1991—1995)[C].南京:南京大学出版社,1998:32.
- [3]中华人民共和国卫生部疾病控制司.血吸虫病防治手册[M].3版.上海:上海科学技术出版社,2000:72-76.
- [4]祝红庆,曹淳力,王强,等.山丘型流行区血吸虫感染者人数低估原因探讨[J].中国血吸虫病防治杂志,2006,18(3):214-216.
- [5]许静,冯婷,郭家钢,等.我国几种日本血吸虫病免疫诊断试剂的综合测评[J].中国血吸虫病防治杂志,2005,17(2):116-119.

(收稿日期:2006-11-01)

《寄生虫病与感染性疾病》杂志 2007年征订启事

《寄生虫病与感染性疾病》杂志是中华预防医学会系列杂志之一,由四川省卫生厅主管,四川省疾病预防控制中心主办,为全国性科技期刊,国内外公开发行,国内统一刊号为CN51-1636/R,国际标准连续出版物号ISSN 1672-2116。本刊已被美国化学文摘(CA)收录,《中国核心期刊(遴选)数据库》、《万方数据系统中国数字化期刊群》、《中文科技期刊数据库》、《中国学术期刊综合评价数据库》等大型检索文献数据库全文收录。

本刊内容主要以反映和交流寄生虫病及感染性疾病为主,即凡是由细菌、病毒、立克次体、寄生虫等病原引起的感染均属此范围。因此,除大专院校,科研防疫部门,有关的行政管理部门外,本刊也适于医院、临床等单位及个人。

本刊突出学术性和实用性相结合的特点,设有专家论坛、论著、综述、实验研究、防治研究、健康教育、临床研究与经验、病例报告、医学新闻、护理经验等。敬请广大作者、读者互相转告,多多赐稿,踊跃订阅。

本刊为季刊,每期定价5.00元,全年20元。

银行汇款:户名:四川省疾病预防控制中心 开户行:成都市建设银行金河支行

账号:51001508608050092193

邮发代码:62-293,各地邮局均可订阅,若错过邮局订阅,可随时汇款向本刊编辑部补订。

地址:成都市武侯区中学路6号,四川省疾病预防控制中心《寄生虫病与感染性疾病》编辑部(勿寄个人)。

邮政编码:610041

电话:(028)85586305

E-mail: jschygrxb@tom.com zzs@scdpc.gov.cn

《寄生虫病与感染性疾病》杂志编辑部