DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.032

论著

文章编号:1000-5404(2002)09-1070-03

三峡库区重庆段移民区肺吸虫病的血清流行病学研究

杨 松[1],刘建平[2],宋建勇[2],林 辉[2],黄 勇[3],朱垿安[3],谭成详[4],石 磊[5] (第三军医大学:[1]基础医学部病原生物学教研室;[2]预防医学系流行病学教研室;重庆 400038;[3]奉节县卫生防疫站,奉节 404600;[4]巫山县卫生防疫站,巫山 404700;[5]巫山县卫生局,巫山 404700)

提 要:目的 了解三峡库区重庆段移民区移民人群肺吸虫病的隐性感染状况。方法 现场流行病学调查和血清流行病学研究。采用ELISA检测移民人群血清肺吸虫IgG抗体。结果 在3个移民区发现肺吸虫IgG抗体阳性,即奉节县万胜乡、康乐镇和巫山县培石镇,阳性率分别为21.43%、16.67%和25.85%。结论 在三峡库区重庆段移民区移民人群的肺吸虫病的隐性感染是存在的,且感染率较高,为21.96%,采取措施预防肺吸虫病的流行是必要的。

关键词:三峡库区;移民;肺吸虫病;血清流行病学
中图法分类号:R181.3+4;R183.5 文献标识码:A

Seroepidemiologic investigation on paragonimiasis at migration areas of the Three-Gorge Reservoir Chongqing Region of Yangtze River

YANG Song, LIU Jian-ping, SONG Jian-yong, LIN Hui, HUANG Yong, ZHU Fa-an, TAN Cheng-xiang, SHI Lei (Department of Pathogenic Biology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To ascertain inapparent infection status of paragonimiasis among the migrants from the Three-Gorge Reservoir Chongqing Region. Methods Epidemiological survey on the spot and seroepidemiologic study were performed. Serum IgG antibodies against paragonimus of the migrants were detected with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Results Three migration areas were serum paragonimus—IgG—antibody-positive, i.e., Wansheng Village, Kangle Town of Fengjie County and Peishi Town of Wushan County. The positive rates of paragonimiasis IgG antibody were 21.43%, 16.67% and 25.85% respectively. Conclusion Covert infection of paragonimiasis is confirmed to be common among the migrants from the Three-Gorge Reservoir Chongqing Region. The inapparant infection rate of paragonimiasis is high. Therefore, it's very necessary to prevent the epidemic breakout by taking some measurements.

Key words: reservoir region of the Three Gorges; migration; paragonimiasis; seroepidemiology

肺吸虫病是一种自然疫源性疾病,在三峡库区广为流行[1,2],三峡地区山涧溪流纵横,为肺吸虫的中间宿主蟹、螺的孳生繁殖创造了良好的生态环境,人们有捕捉蟹生吃的习惯,三峡水库建成蓄水后,支流及溪沟会增多,更有利于中间宿主繁殖,有可能使肺吸虫病流行区扩大,对移民健康威胁较大[2]。目前关于三峡库区移民区肺吸虫病报道极少。本文欲通过现场流行病学调查和血清流行病学研究,了解三峡库区重庆段移民区移民人群感染状况,为库区移民卫生防病工作提供一定理论依据。

1 材料与方法

1 材料

1.1.1 血清 采集移民静脉血,现场离心取血清,4 ℃冰箱保存,放冰袋运回实验室,-20 ℃冰箱储存备用。

1.1.2 试剂 包被斯氏肺吸虫代谢抗原的酶标杯条、稀释液、血清酶应用液、阳性对照、临界对照、底物A、B液和终止液等试剂由四川省寄生虫病防治研究所提供。

1.1.3 仪器 酶联免疫检测仪,DG 3022型,第四军医大学华东电子管厂。

1.2 方法

1.2.1 现场流行病学调查 包括现场选点及代表性、疫情资料收集、自然地理调查和血清标本的采集等。

1.2.2 血清流行病学研究 在实验室进行ELISA,检测移民血清肺吸虫IgG抗体,方法与步骤如下:每批检测设临界及阳性各1孔,分别直接加入临界及阳性对照各1滴,在包被抗原的小皿内每孔滴加稀释液2滴,然后直接加入待测血清5 μl,混匀后放37 ℃ 10 min;反应后甩去血清,用蒸馏水冲洗2次,拍干;每孔加入酶应用液1滴,37 ℃反应10 min后,用蒸馏水冲洗5次,拍干;每孔加底物A液1滴,B液1滴,室温(25±5 ℃)5 min后,观察结果。

1.2.3 结果判断 每孔加终止液1滴中止反应,用450 nm波长测定。

$$\text{测定样本}=\frac{\text{测定孔 OD 值}}{\text{临界孔 OD 值}}\times 100\% > 100 \text{ 单位为阳性}$$

1.3 统计学检验

χ^2 检验。

基金项目:重庆市科学委员会资助项目(52227)
作者简介:杨 松(1970-),男,重庆市人,博士研究生,主治医师,主要从事传染病流行病学研究。电话:(023)68752243。
收稿日期:2001-08-05;修回日期:2001-11-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2　结果

2.1　移民区自然地理和肺吸虫疫情调查

选取巫山县培石镇(A 镇)和奉节县万胜乡(B 乡)和康乐镇(C 镇)为研究现场。此 2 县属于典型的峡谷地区, 移民安置任务重, 均为肺吸虫病流行区。该 2 镇 1 乡的移民安置区周围均为高山。培石镇位于长江干流边, 属于移民安置区, 四周被高山环抱, 人们生活普遍使用泉水、溪水, 且有饮用溪涧水和生吃、半熟吃蟹的习惯。1997 年在该镇发生 1 例因在当地吃蟹而患肺吸虫病的患者(未进行虫种鉴定)。奉节县万胜乡位于长江支流朱衣河边, 属于移民淹没和安置区, 但是由于该支流常年干涸, 人们几乎全部饮用溪涧水。康乐镇位于梅溪河旁, 属于安置区, 属于肺吸虫病流行区。

2.2　移民血清标本的采集

抽移民静脉血约 3 ml, 现场离心取血清, 冰袋运回实验室, −20 ℃冰箱保存备用。

2.3　移民血清肺吸虫 IgG 抗体的检测

共计检测 3 个移民区 419 份移民血清标本, 农民 235 人, 学生 76 人, 教师 23 人, 其他 85 人; 男性 191 人, 女性 228 人; 年龄在 4～78 岁之间, 平均 25 岁。见表 1。

表 1　各移民区移民的职业、性别及年龄分布

Tab 1　Numbers and positive rate of positive-serum IgG antibody to paragonimus in the migrants from three migrant areas

Migrant Areas	Profession				Sex		Age (year)			Total
	Peasant	Student	Teacher	Others	Male	Female	Minimus	Maximum	Average	
Town A	54	48	19	26	77	70	10	70	23	147
Village B	132	19	2	29	79	103	5	78	34	182
Town C	49	9	2	30	35	55	4	74	35	90
Total	235	76	23	85	191	228	4	78	25	419

职业和性别均进行统计学 χ^2 检验, 结果显示: 各职业间 $\chi^2=77.226>\chi^2_{0.005(6)}=18.55$, $P<0.005$, 三移民区移民人群职业间有显著差异性, 万胜乡和康乐镇以农民为主, 培石镇以农民和学生为主。性别间 $\chi^2=4.7119<\chi^2_{0.05(2)}=5.99$, $P>0.05$, 三移民区移民人群男、女性无显著差异性。

从 419 人份移民血清中, ELISA 检测出肺吸虫 IgG 抗体阳性 92 人, 阳性率 21.96%, 见表 2。

表 2　三移民区移民人群血清肺吸虫 IgG 抗体阳性数及阳性率

Tab 2　Numbers of the immigration of positive-serum IgG antibody to paragonimus and its positive rate from three migrant areas

Migrant Areas	Number of Immigration	Number of positive-serum IgG	Positive rate of IgG (%)
Town A	147	38	25.85
Village B	182	39	21.43
Town C	90	15	16.67
Total	419	92	21.96

经 χ^2 检验, $\chi^2=2.79994<\chi^2_{0.05(2)}=5.99$, $P>0.05$, 三移民区移民人群肺吸虫 IgG 抗体阳性率间无显著差异性。

三移民区移民人群肺吸虫 IgG 抗体阳性者的职业、性别及年龄分布, 见表 3。

表 3　三移民区移民人群肺吸虫 IgG 抗体阳性者的职业、性别及年龄分布

Tab 3　Distribution of profession, sex and age of the migrants positive to paragonimus from three migrant areas

Migrant Areas	Profession (number)				Sex (number)		Age (year)					Total
	Student	Peasant	Teacher	Others	Male	Female	≤19	20～29	30～39	≥40		
Town A	15	14	4	5	23	15	15	9	2	12		38
Village B	1	8	0	6	4	11	2	3	5	5		15
Town C	2	32	1	4	14	25	5	11	8	15		39
Total	18	54	5	15	41	51	22	18	15	32		92

各职业的构成比: 农民占 58.7%, 学生占 19.6%, 其他占 16.3%和老师占 5.4%, $\chi^2=29.408>\chi^2_{0.005(6)}=18.55$, $P<0.005$, 各职业间有非常显著差异性, 万胜乡和康乐镇以农民为主, 培石镇以农民和学生为主。性别比: 女性占 55.4%, 男性占 44.6%, $\chi^2=7.0497>\chi^2_{0.05(2)}=5.99$, $P<0.05$, 培石镇以男性为主, 万胜乡和康乐镇以女性为主。年龄构成比: ≤19 岁占 23.9%, 20～29 岁占 19.6%, 30～39 岁占 16.3% 和≥40 岁占 34.8%, $\chi^2=18.935>\chi^2_{0.005(6)}=18.55$, $P<0.005$, 各年龄段有显著差异性, 培石镇以 19 岁以下较多, 万胜乡以 30 岁以上居多, 而康乐镇以 40 岁以上为主。

3　讨论

3.1　选点及样本的代表性

采用整群抽样方法选取 2 县 3 个移民乡镇为研究现场, 这 2 县均为肺吸虫病流行区, 3 个移民区位于长江干流或支流边, 既有淹没区又有安置区, 移民的职业多, 主要以农民和学生为主, 与肺吸虫病的患病对象一致, 故本研究中教师样本数纳入较少。性别间有可比性, 年龄分布广, 故样本具有较好的代表性。

3.2　肺吸虫抗体 ELISA 结果分析

酶联免疫吸附试验检测肺吸虫抗体, 具有较高的敏感性和特异性[3], 阳性率可达 90%～100%[4,5], ELISA 阳性者可反映当地肺吸虫病的感染流行情况。本研究结果显示移民人群血清肺吸虫 IgG 抗体阳性率在 16.67%～25.85%之间, 各移民区移民阳性率间无显著差异性。其中, 巫山县培石镇阳性率为 25.85%, 与文献[2]报道的巫山县肺吸虫抗原皮试阳性率 22.3%略高, 而奉节县的万胜乡和康乐镇分别为 21.43%和 16.67%, 均高于文献[2]报道的奉节县肺吸虫抗原皮试阳性率 9.7%。3 个移民乡镇总的情况是以农民感染为主, 阳性构成比达 58.7%, 其次为学生, 占 19.6%, 教师和其他职业占少数。教师与农民、学生血清肺吸虫 IgG 抗体阳性率差别显著的原因之一为不排除与教师样本数较少引起偏倚的可能, 虽然对结果影响较小, 在以后研究中应避免。奉节县 2 个移民乡镇均以农民为主, 构成比分别占 82.1%和 53.3%。在巫山县培石镇以学生和农民为主, 各占 39.5%和 36.8%, 学生略高于农民。总的情况分析, 3 移民乡镇移民的性别分布女性略多于男性, 巫山县培石镇移民男性(60.5%)多于女性(39.5%), 而在奉节县 2 移民乡镇均以女性居多。各年龄段均有分布。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3.3 移民区移民人群肺吸虫感染较高的原因分析

首先，三峡库区的自然地理环境有利于肺吸虫中间宿主的孳生和动物传染源的栖息。从奉节县、巫山县到三峡工程大坝均属于峡谷地区，以高山为主，支流众多，山间溪涧纵横，草木丛生，野生动物种类繁多，属亚热带气候，年平均气温 16℃～20 ℃，这些地理景观为肺吸虫中间宿主的孳生、传染源动物的繁殖和肺吸虫病的流行创造了有利条件。其次，在 3 个移民区移民普遍生活和生产用溪水，很少用自来水。农民、学生阳性构成比最高，这主要与农民、学生卫生意识差有关，有生吃、半熟吃蟹的习惯，从而增加了感染的机会。

3.4 肺吸虫病流行趋势预测与防治策略的制定

三峡水库建成后，水位升高 175 m，支流及溪涧会显著增加，水流更缓慢(可能减缓 60％～80％)，更适宜于肺吸虫中间宿主孳生和保虫动物的繁殖，极有可能发生流行。因此，及早制定防治对策和采取防制措施是必要的。首先，要对移民进行卫生知识宣传和健康教育，让他们了解肺吸虫病的有关医学知识，提高防病意识，并养成不饮用生水、生吃蟹等习惯。其次，彻底治疗病人和患有本病的、且有价值的保虫动物，对无价值的动物可进行焚烧或淹埋，以控制传染源。最后，建议当地有关部门为移民提供自来水，管理好粪便，杀灭痰、粪中虫卵，防止虫卵入水，以切断传播途径。

3.5 加强流行病学调查研究

深入调查肺吸虫的中间宿主和保虫动物，扩大调查的范围，采用多种方法进行调查，如肺吸虫皮试、痰检、粪检和血清免疫学相结合，以提高检出率。同时进行病原学研究，查明虫种。

参考文献：

[1] 阮小明. 为了三峡百万移民的健康[J]. 医学与哲学，1995，16(9)：461－463.

[2] 刘纪伯，刘宗华，易德友，等. 长江三峡地带肺吸虫病流行病学调查[J]. 四川寄生虫防治研究，1988，16(1)：21－24.

[3] 段芸芬，宋昌存，寿干城，等. 酶联免疫吸附试验在肺吸虫病流行病学调查中的应用[J]. 中华流行病学，1986，7(4)：206－208.

[4] 陈佩惠 主编. 人体寄生虫学[M]. 第 4 版. 北京：人民卫生出版社，1999. 96－99.

[5] 詹希美 主编. 人体寄生虫学[M]. 第 5 版. 北京：人民卫生出版社，2001. 129.

(编辑 汪勤俭)

(上接 1069 页)

1.3 方法

PBS 洗后，用 0.1％Triton x-100 内浸 10 min，以增加细胞膜通透性。PBS 洗 3× 5 min，3％H_2O_2 阻断内源性过氧化物酶 10 min。PBS 洗 3× 5 min，滴加特异性一抗，37 ℃ 60 min。PBS 洗 3×5 min，Envision™ 15 min。PBS 洗 3× 5 min，DAB 显色。水洗，苏木精复染，常规封固。

2 结果

42 例临床疑为肺癌作活检和纤维支气管镜刷片细胞学检查中，活检经 HE 染色诊断为鳞状细胞肺癌的有 30 例，2 例腺癌，小细胞肺癌的有 6 例，因组织太少，诊断不能确定类型的有 4 例。细胞学经 HE 染色诊断为鳞状细胞肺癌的有 20 例，2 例腺癌，小细胞肺癌的有 4 例，癌细胞不能确定类型有 16 例。在 42 例纤维支气管镜刷片中用免疫组化染色分型诊断：鳞状细胞肺癌 29 例(高分子量角蛋白染色阳性)，2 例腺癌(低分子量角蛋白染色阳性)，小细胞神经内分泌肺癌 5 例(角蛋白阳性，NSE 阳性)，其余 6 例因细胞成分太少，免疫组化结果对诊断及分型尚不能明确，见表 1。

表 1 42 例肺癌组织学、刷片 HE 及免疫组化染色结果(例)

方法	鳞状细胞肺癌	小细胞肺癌	腺癌	不能确定类型
活检组织 HE 染色	30	6	2	4
支气管刷片 HE 染色	20	4	2	16
免疫组化在刷片上的染色	29	5	2	6

3 讨论

42 例纤维支气管镜刷片的免疫组化的检查结果表明，经免疫组化染色分型与组织学检查基本一致，而且明显优于刷片常规 HE 染色分型，免疫组化染色对肺癌的类型鉴别诊断有实用意义。涂片 HE 染色癌细胞虽有一定的形态特点，但确切分型仍有一定的困难，特别是在涂片中 HE 染色难以确定癌细胞类型，故结合免疫组化染色，可以达到刷片诊断的确切分型，若在纤维支气管镜不做活检的情况，刷片经免疫组化标记明确癌细胞的类型，有利临床治疗和判断预后。该方法简便、快速、经济。

要做好细胞涂片上的免疫组化染色，我们体会和结合文献[1，2]提出：①细胞涂片的质量要高，固定必须及时。②在一张涂片上做两种特异性抗体，为了避免交叉反应，需用记号笔标记区域，如 DAKO 笔。③封闭内源酶要彻底，以防假阳性的出现。④由于细胞涂片背景常有一些粘液残渣，做免疫组化染色时洗涤要充分彻底。⑤用 Triton X-100 预处理细胞，提高膜的通透性，结合 EnVision 法免疫组化技术染色可获得较满意的结果。

关键词：免疫组织化学；染色；诊断
中图法分类号：R446.8；R563.9 文献标识码：B

参考文献：

[1] 孟 刚. 细胞涂片免疫组化染色的一点体会[J]. 临床与实验病理学杂志，1992，8(2)：152.

[2] 沈 明，蒋海鹰. Triton X-100 在培养细胞免疫组化染色中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志，1998，14(2)：197.

(编辑 陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net