

· 现场调查 ·

深圳市楼村华支睾吸虫感染调查

彭朝琼 耿艺介 高世同 黄达娜 庾蕾 张仁利

【摘要】目的 了解深圳市居民华支睾吸虫感染状况、传播途径和流行特征。**方法** 用血清免疫学筛查,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法,对检出的阳性者进行粪便病原学检查;同时进行问卷调查与华支睾吸虫感染相关的生活和行为方式;现场调查华支睾吸虫病传播途径。**结果** 共调查 1473 名 6~65 岁深圳市居民,男性 710 名,女性 763 名;有 70 名华支睾吸虫阳性(4.75%);男性的感染率为 4.22% (30/710),女性感染率为 5.24% (40/763),男女性间比较无差异;但每克粪便中的虫卵数男性高于女性,表明男性的感染强度高于女性;人群中不同年龄组表现了不同的感染率,最高感染率的年龄组主要分布在 31~50 岁,高于 30 岁以下和 50 岁以上年龄组;54% 的被调查者不了解华支睾吸虫及其传播途径,27% 的被调查者每月吃 1~2 次淡水生鱼片,5% 的家庭使用同样的刀具处理淡水鱼和蔬菜,40% 的养鱼者利用动物和人的粪便喂食鱼类。**结论** 深圳市楼村是华支睾吸虫病流行村,居民传统嗜好生吃淡水鱼和生态养殖的生产方式是造成华支睾吸虫病流行的主要因素。

【关键词】 华支睾吸虫;流行病学调查;传播途径

Epidemiological studies on *Clonorchis sinensis* infection along the Zhujiang river in Lou village of Shenzhen PENG Zhao-qiong, GENG Yi-jie, GAO Shi-tong, HUANG Da-na, YU Lei, ZHANG Ren-li. Department of Molecular Biology, Shenzhen Centre for Diseases Control and Prevention, Shenzhen 518020, China

Corresponding author: ZHANG Ren-li, Email: renlizhang@tom.com

【Abstract】 Objective To study the transmission route and epidemiological features of *Clonorchis sinensis* infection in Shenzhen area — the biggest immigration city of Southern China. **Methods** In this study, we examined 1473 individuals (710 males and 763 females) to determine the current status of *C. sinensis* infection among the people in one village in Zhujiang river region, Guangdong province, China. Blood samples were detected on antibody of *C. sinensis* with enzyme linked immunosorbent assay, and stool specimens from sera positive cases were examined by modified Kato-Katz thick smear to confirm the density of infection. People were interviewed on their life styles under the structured questionnaire which was administered by trained staff members. Major content of the questionnaire included eating raw fish, using the same utensils for both raw fish and cooked food, using feces of domestic animals and human feces to feed fish and so on. **Results** Among 1473 people examined, 70 (4.75%) were found infected with *C. sinensis*. By counting eggs per gram feces (EPG), it was found that heavy intensities of infection in males was stronger than that of females, and the overall average EPG was 41.87. Of 1473 interviewees, 54% of them did not know about fluke disease or its transmission route, 12% of those who knew about the fluke but believed that the infection caused no harm or only slight harm to their health. 27% of the interviewees ate raw fish at least 1-2 times per months with 5% of the families using the same utensils for both raw fish and cooked food. 40% of the fish ponds owners fed their fish with the feces of domestic animals and human feces. **Conclusion** Together with these results, unhealthy behaviors, poor knowledge, inappropriate farming/fishery practices, eating raw fish were important factors influencing the *C. sinensis* prevalence in humans.

【Key words】 *Clonorchis sinensis*; Epidemiological investigation; Transmission route

华支睾吸虫在我国有 22 个省市发现流行,尤以广东地区为重;主要分布在珠江和韩江水系。目前我国有华支睾吸虫感染者比 15 年前增长了 75%^[1,2]。由于珠江三角洲一带盛行吃生鱼片、生鱼粥,因此华支睾吸虫感染较为严重。该地区农民

常将厕所建在鱼塘上,粪便直接排入鱼塘,池塘中的螺蛳、鱼、虾很容易被感染^[3]。本次通过对深圳市楼村居民华支睾吸虫的调查来了解该病的流行特征,以便控制和阻断该病的传播。

对象与方法

1. 人群样本:深圳市公明街道楼村总人口 2662

作者单位:518020 深圳市疾病预防控制中心医学分子生物学实验室

通讯作者:张仁利,Email:renlizhang@tom.com

人,其中男性 1449 人,女性 1213 人;本次对其中 1473 人进行了华支睾吸虫感染的血清学和病原学检测,并进行相关问卷调查,调查对象的年龄为 6~65 岁。

2. 华支睾吸虫病患者诊断:用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法筛查 1652 人份华支睾吸虫感染的血清样本,筛查阳性者用 Kato-Katz 厚图片法进行病原学的诊断,并计算感染者的感染度[每克粪便虫卵数(EPG)]。

3. 华支睾吸虫第一中间宿主感染情况调查:从楼村周边淡水湖中采集 630 只华支睾吸虫第一中间宿主淡水螺;包括 204 只纹沼螺、110 只中华沼螺、97 只赤豆螺、85 只长角涵螺,用压碎法将螺压碎,在显微镜下观察具有眼点的华支睾吸虫尾蚴,并计算感染率。

4. 华支睾吸虫第二中间宿主感染情况调查:在楼村共收集 6 类淡水鱼,分别为 27 只鲢鱼、15 只麦穗鱼、40 只鲤鱼、35 只鳊鱼、30 只鲮鱼、48 只非洲鲫鱼;用消化方法检测囊蚴,对于较大的鱼剖杀后去其头、尾、骨、内脏和鱼皮,分离肌肉捣碎。在称重后,用约 10 倍体积的人工胃液(HCl 33.7 ml,胃蛋白酶 25 g加蒸馏水至 5000 ml)于室温下消化过夜,消化过程中不定时搅拌。消化物用约 200 目的铜筛过滤,滤液经反复沉淀数次,直至上清为止,然后弃去上清,取沉淀物在显微镜下观察囊蚴。

5. 反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)鉴定华支睾吸虫囊蚴:使用 PUREscript 试剂(Gibco, Grand Islands, USA),按照试剂盒的方法提取华支睾吸虫囊蚴总 RNA,提取的 RNA 被保存在 -80℃ 备用,使用 MuLv 反转录酶和 random hexamer 引物(Perkin Elmer, Branchburg, USA)将 1 μg 的华支睾吸虫囊蚴总 RNA 被反转录为 cDNA, cDNA 被用来进行 PCR 分析,被扩增的特异基因为华支睾吸虫过氧化物酶(SOD)基因,引物为:Sense 5'-tcc atg cct ttg gcg aca c-3'; Anti-sense 5'-agg gcc ggt gag aga-3'; PCR 反应条件为:一个单位的 Taq DNA 聚合酶(Perkin Elmer, Roche, NJ, USA)和 30 pmol 的特异性引物以及 10× 的 PCR 缓冲液; PCR 循环为 94℃ 5 min; 94℃ 45 s, 58℃ 1 min, 72℃ 45 s, 35 个循环; 72℃ 7 min。

6. 问卷调查:1473 人被调查与华支睾吸虫感染的相关问题,包括吃淡水生鱼片的习惯、是否使用同样的刀具处理鱼和水果、蔬菜,是否有吃淡水鱼粥的

习惯以及是否用动物和人的粪便喂食养殖的鱼类。

7. 统计学分析:资料用 SPSS 软件进行统计分析,每两组之间用 *t* 检验进行分析比较。

结 果

1. 血清学调查:用华支睾吸虫卵可溶性抗原作为 ELISA 方法的诊断抗原筛查楼村人群华支睾吸虫的感染情况,1473 人中有 70 人呈阳性反应(4.75%)。在不同的年龄组之间表现了不同的感染率,从 20 岁开始感染率不断上升,31~40 岁为感染率高峰,50 岁以上感染率开始下降(表 1);虽然女性的感染率(5.24%, 40/763)略高于男性(4.22%, 30/710),但二者相比无差异(表 2)。

表1 楼村不同年龄组华支睾吸虫感染情况 (血清学筛查)

年龄(岁)	筛查人数	阳性例数	阳性率(%)	95% CI
<10	257	8	3.10	0.98~5.22
10~	182	8	4.39	1.41~7.37
21~	312	14	4.49	2.19~6.79
31~	342	24	7.01	4.30~9.72
41~	175	12	6.85	3.11~10.59
>51	205	4	1.95	0.06~3.84
合计	1473	70	4.70	3.66~5.84

表2 楼村不同性别华支睾吸虫的感染率和感染度 (Kato-Katz)

性别	人数	阳性例数	阳性率(%)	感染度(EPG)	95% CI
男	710	30	4.22	54.58 ^a	2.74~5.70
女	763	40	5.24	29.16	3.66~6.82
合计	1473	70	4.75		3.66~5.84

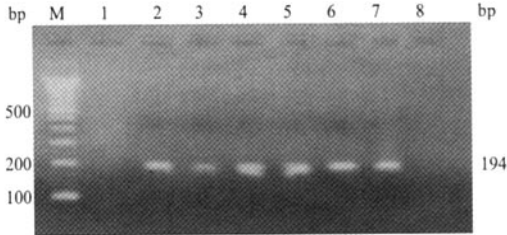
注:^a 男女性相比差异有统计学意义(P<0.01)

2. 华支睾吸虫第一、二中间宿主感染率的调查:调查了 4 种主要的淡水螺感染华支睾吸虫尾蚴的情况,在 204 个纹沼螺中有 41 个阳性,是 4 种淡水螺中感染率最高的;其他螺类的感染情况见表 3,并检出具有眼点的尾蚴;检测的淡水鱼类均有华支睾吸虫囊蚴感染,在 430 个淡水鱼的样本中 73 个样本为阳性(16.98%, 73/430),鲢鱼感染率的最高(40.74%, 11/27),其他鱼类的感染情况见表 3。

表3 楼村淡水螺和鱼类华支睾吸虫尾蚴的感染情况

螺和鱼类	调查个数	阳性个数	阳性率(%)	螺和鱼类	调查个数	阳性个数	阳性率(%)
纹沼螺	204	41	2.00	麦穗鱼	15	5	33.33
中华沼螺	110	13	1.18	鲤鱼	37	11	29.72
赤豆螺	97	12	1.23	鳊鱼	34	7	20.58
长角涵螺	85	7	0.82	鲮鱼	30	6	20.00
鲢鱼	27	11	40.74	非洲鲫鱼	30	6	20.00

3. RT-PCR 鉴定华支睾吸虫囊蚴: 利用华支睾吸虫保守 SOD 基因作为识别基因, 将电子显微镜检的华支睾吸虫囊蚴进行进一步的扩增特异性 SOD 基因, 在镜检发现的 64 个阳性标本中有 57 个样本出现该基因特异性扩增片段(图 1)。



注: 1: 洞庭湖外睾吸虫囊蚴; 2~7: 华支睾吸虫囊蚴; 8: 阴性空白对照; M: 100 bp Marker

图 1 RT-PCR 扩增华支睾吸虫囊蚴的特异性基因片段

4. 楼村华支睾吸虫病传播途径调查: 1473 名调查者中 54% 不了解华支睾吸虫病及其传播途径, 有 27% 的人每月要吃 1~2 次淡水生鱼片或鱼粥, 生鱼片中能够检测出华支睾吸虫的囊蚴; 有 40% 的养鱼者用动物和人的粪便喂鱼, 还有的把养猪栏直接建到鱼池上。

讨 论

陈结云等^[4]对广东省某些地区淡水鱼感染华支睾吸虫的调查表明, 顺德地区鲩鱼的感染率高达 75%, 南海地区鳊鱼的感染率达 86.7%, 感染度最高为每克鱼肉 0.147 个。有关报道显示, 在亚洲虽然华支睾吸虫的第一、二中间宿主很少有差别, 但不同地方传播途径不同; 韩国的传播主要是吃了淡水生鱼片和未烤熟的淡水鱼^[5,7]。本调查发现, 楼村居民感染华支睾吸虫 70% 是吃半生的淡水鱼粥和泡制的淡水鱼, 也有少部分是吃生鱼片而感染。Lin 等^[8]报道, 在广西唯一的感染途径是吃淡水生鱼片。Bae 等^[9]报道, 在韩国的 Gyeongnam 省 *Pseudorabara striatulus* 螺是当地的主要第一媒介宿主, *Pseudorabara pava* 是主要的第二媒介宿主。在楼村 *Parafossarulus striatulu* 螺有华支睾吸虫尾蚴较高的感染率, *Ctenopharyngoden idellus* 是楼村感染率最高的第二中间宿主。在韩国 Gyeongnam 省 40~59 岁年龄段感染率高达 53.4%^[10]。而在楼村 31~40 岁组的感染率最高(40%), 感染的高峰年龄段要比韩国的高峰年龄段低, 考虑可能是由于感染途径不同所致; 因为在我国广东省主要是吃淡水鱼粥, 且年龄较小就开

始了; 而韩国主要是在饮酒时吃淡水生鱼片。

为了鉴别在显微镜下观察到的囊蚴为华支睾吸虫, 本文用基因扩增华支睾吸虫囊蚴特异性基因片段, 与形态学观察的结果相一致, 不需要进行动物感染实验来进行鉴别华支睾吸虫囊蚴, 这种分子生物学结合传统的形态学在物种的鉴别上是很有帮助的。有报道, 韩国的华支睾吸虫的保虫宿主为狗、猪、猫、大鼠和野生动物等^[10,11]。控制保虫宿主是预防华支睾吸虫流行的一个重要手段。本次研究没有调查华支睾吸虫的保虫宿主, 有待在今后的研究中完成。

农业生产方式即生态农业系统是华支睾吸虫病传播的一个流行因素, 生态农业提倡用动物和人的粪便喂养鱼类, 甚至直接将养殖场和厕所建在鱼塘上, 让粪便直接排泄到鱼塘, 促进了华支睾吸虫生活史循环; 吃淡水生鱼片和鱼粥是感染华支睾吸虫的主要传播途径, 改变传统的生活方式是控制该病感染的措施之一, 同时加强健康教育宣传, 进行行为干预也是控制华支睾吸虫流行重要措施。

有报道华支睾吸虫感染与肝胆管癌的发生密切相关^[12], 在本次调查中观察到一些临床症状, 如华支睾吸虫感染者胆结实、胆囊息肉的发生率相对较高; 为此须作进一步的观察与研究。

参 考 文 献

- [1] 赵蔚先. 人体寄生生物学. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 460-462.
- [2] 中华人民共和国卫生部新闻公报. 人体寄生虫流行病学调查结果 [OL]. 2005-05-17. <http://www.XINHUANET.com>
- [3] 方悦怡, 潘波, 史小楚, 等. 广东省两次寄生虫病分布调查对比分析. 海峡预防医学杂志, 2000, 6(2): 32-33.
- [4] 陈结云, 陈翠珊, 叶葆青, 等. 珠江三角洲不同地区淡水鱼华支睾吸虫感染情况. 热带医学杂志, 2004, 4(4): 418-420.
- [5] Lun ZR, Gasser RB, Lai DH, et al. Clonorchiasis: a key foodborne zoonosis in China. Lancet Infect Dis, 2005, 5(1): 31-41.
- [6] Yu SH, Kawanaka M, Li XM, et al. Epidemiological investigation on *Clonorchis sinensis* in human population in area of South China. Jpn J infect Dis, 2003, 56(4): 168-171.
- [7] Choi MH, Ji Z, Cho SY, et al. Correlation between sonographic findings and infection intensity in clonorchiasis. Am J Trop Med Hyg, 2005, 73(6): 1139-1144.
- [8] Lin R, Li X, Lan C, et al. Investigation on the epidemiological factors of *Clonorchis sinensis* infection in an area of south China. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2005, 36(5): 1114-1117.
- [9] Bae KH, Ahn YK, Soh CT, et al. Epidemiological studies on *Clonorchis sinensis* infection along the Nam-river in Gyeongnam province, Korea. Kisaengchunghak Chapchi, 1993, 21(2): 167-186.
- [10] Rim HJ. Clonorchiasis: an update. J Helminthol, 2005, 79(3): 269-281.
- [11] Lim MK, Ju YH, Franceschi S, et al. *Clonorchis sinensis* infection and increasing risk of cholangiocarcinoma in the Republic of Korea. Am J Trop Med Hyg, 2006, 75(1): 93-96.
- [12] Hoi D, Lim JH, Lee KT, et al. Cholangiocarcinoma and *Clonorchis sinensis* infection: a case-control study in Korea. J Hepatol, 2006, 44(6): 1066-1073.

(收稿日期: 2006-12-28)

(本文编辑: 尹廉)