

四川省黑水县人群利什曼原虫感染血清学调查

杨玥涛¹ 唐晓军² 张富南³ 汪俊云^{1*} 高春花¹ 石锋¹

【摘要】 目的 了解四川省黑水县人群血清利什曼原虫特异抗体阳性率。方法 在四川省黑水县近年有内脏利什曼病病例报告的乡村采集人群血清,采用间接酶联免疫吸附试验检测利什曼原虫特异抗体。计算人群血清阳性率,统计不同年龄、职业组的阳性率,各组阳性率的比较采用 χ^2 检验。结果 共采集 397 份血清,抗体阳性者 48 人,阳性率为 12.09%。色尔古乡、龙坝乡、维古乡、洛多乡的人群血清抗体阳性率依次为 13.74%(18/131)、11.11%(9/81)、12.82%(11/107)和 10.28%(10/78),各乡人群阳性率差异无统计学意义($\chi^2=0.78, P>0.05$)。1~5、6~10、11~15、16~20 和 21 岁以上各年龄组人群抗体阳性率分别为 23.08%(3/13)、11.54%(6/52)、11.56%(26/225)、0(0/6)和 12.87%(13/101),不同年龄组阳性率差异有统计学意义($\chi^2=8.06, P<0.05$),以 1~5 岁年龄组最高(23.08%)。男、女性阳性率为 12.21%(26/213)、11.96%(22/184),性别差异无统计学意义($\chi^2=0.005, P>0.05$)。散居儿童、学生、教师及农民的阳性率依次为 14.29%(3/21)、11.72%(32/273)、6.38%(3/47)和 17.86%(10/56),职业间差异无统计学意义($\chi^2=3.05, P>0.05$)。结论 四川省黑水县人群血清利什曼原虫特异抗体阳性率较高,应加强内脏利什曼病的防治工作。

【关键词】 内脏利什曼病;利什曼原虫感染;血清学调查;黑水县

Serological investigation of human *Leishmania* infection by ELISA in Heishui County of Sichuan

Province, China YANG Yue-tao¹, TANG Xiao-jun², ZHANG Fu-nan³, WANG Jun-yun^{1*}, GAO Chun-hua¹, SHI Feng¹. ¹National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China ²Sichuan Center for Disease Control and Prevention 623500, China ³Sichuan Heishui Center for Disease Control and Prevention, 610041, China

* Corresponding author: WANG Jun-yun, Email: wangjunyunwjy@163.com

Supported by the National Science and Technology Major Program (2012ZX10004220)

【Abstract】 Objective To investigate the positive rate of the specific antibody of human *Leishmania* infection in serum of people in Heishui County of Sichuan Province, China. **Methods** The serum samples were collected from different townships where visceral leishmaniasis cases had been reported in recent years. ELISA was employed to test the specific antibody of the serum from residents. Seroprevalence of population was calculated, the positive rates in different age groups and different occupation groups were compared with χ^2 test. **Results** Among the 397 serum samples, 48 were found to be positive of antibody against *Leishmania* by ELISA with a serum positive rate of 12.09%. The serum positive rate of Serergu, Longba, Weigu, Luoduo was 13.74%(18/131), 11.11%(9/81), 12.82%(11/107) and 10.28%(10/78) respectively with no significant difference in serum positive rate at different townships ($\chi^2=0.78, P>0.05$). The serum positive rate of 1-5, 6-10, 11-15, 16-20 and above 21 age group was 23.08%(3/13), 11.54%(6/52), 11.56%(26/225), 0 (0/6) and 12.87%(13/101), there were significant difference with serum positive rate of antibody against *Leishmania* in different age group with the highest positive rate 23.08% in 1-5 age group ($\chi^2=8.06, P<0.05$). The serum positive rate of male and female was 12.21%(26/213), 11.96%(22/184) with no significant difference ($\chi^2=0.005, P>0.05$). The serum positive rate of scattered children, student, teacher and other nonagricultural worker, farmer was 14.29%(3/21), 11.72%(32/273), 6.38%(3/

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2013.03.006

基金项目:国家科技部重大专项(2012ZX10004220)

作者单位:¹200025 上海,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所,卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室,世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心;²623500 黑水,四川省黑水县疾病预防控制中心;³610041 成都,四川省疾病预防控制中心

* 通信作者:汪俊云,Email: wangjunyunwjy@163.com

47) and 17.86%(10/56) with no significant difference ($\chi^2=3.05, P>0.05$). **Conclusion** The results indicated that the positive rate of the specific antibody against human *Leishmania* infection in serum is high in population of Heishui County. It is necessary to strengthen Kala-azar prevention and treatment.

【Key words】 Visceral leishmaniasis; *Leishmania* infection; Serological investigation; Heishui County

内脏利什曼病是由利什曼原虫寄生于人或哺乳动物单核巨噬细胞内所致的一类人兽共患寄生虫病,由媒介白蛉叮咬传播。目前内脏利什曼病仍在我国的新疆、甘肃、四川、陕西、山西和内蒙古等 6 省(自治区)流行^[1-2]。四川省北部是我国主要的内脏利什曼病流行区,为人犬共患型。黑水县位于四川省阿坝藏族羌族自治州中部,是重要的内脏利什曼病流行区,近年来发病数不断增加,犬的感染率相当高^[3]。而多年来对当地人群利什曼原虫感染情况未做监测,在此背景下本研究组对黑水县人群血清利什曼原虫特异抗体情况作了调查分析。

1 材料和方法

1.1 采样

2011 年 5 月上旬在黑水县主要内脏利什曼病流行乡镇——黑水河沿岸的涉及色尔古乡、维古乡、龙坝乡和洛多乡,获得村民的知情同意后采用单纯随机抽样法对居民进行采样。取样前先对村民进行问卷调查(问卷内容包括姓名、性别、年龄、住址、职业及有无内脏利什曼病史等)及扪脾检查。每人取肘静脉血,离心分离血清置离心管中-20℃保存备用。20 例内脏利什曼病患者的血清由四川省疾病预防控制中心提供(均为骨髓涂片镜检确诊);30 例健康者血样取自上海献血人员。所取样品均于-20℃冰箱保存备用。

1.2 ELISA 法检测

收集培养的四川株婴儿利什曼原虫(MCAN/CN/90/SC)前鞭毛体,经 PBS 洗 3 次后,按前鞭毛体的压积量加 4 倍体积的 PBS,在液氮和 37℃水浴中反复冻融 5 次,然后在冰浴中超声粉碎 3 次,4℃20 000×g 离心 30 min,所得上清即为可溶性粗抗原,该抗原在本研究中用作包被抗原以检测人血清中婴儿利什曼原虫特异抗体。ELISA 检测方法参照文献^[4]并做适当调整。简言之,可溶性粗抗原包被量为 0.5 μg/孔。血清样本的稀释度为 1:200。羊抗人 IgG 辣根过氧化物酶结合物的工作浓度为 1:30 000,加入 TMB 底物显色后在 450 nm 波长处测定吸光度(A)值。以 30 个非疫区健康人血清的 A_{450} 均值加

3 个标准差($\bar{x}+3s$)定为阳性阈值,每份血清做两个孔,受检样本的 A_{450} 平均值等于或大于阈值者判为阳性。每板均设 2 份阴性对照和 2 份阳性对照。

1.3 统计学分析

采用 SPSS12.0 进行统计学分析,计算人群血清阳性率,统计不同年龄、职业组的阳性率,各组阳性率的比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 人群血清学抗体阳性率

用 ELISA 方法检测黑水县主要内脏利什曼病流行区 397 人血清、20 例内脏利什曼病患者的血清和 30 例健康者血清。现场 397 人血清抗体阳性者 48 人,阳性率为 12.09%;20 例内脏利什曼病患者的血清抗体均为阳性;30 例健康者血清抗体均为阴性。现场未查见内脏利什曼病现症患者。

2.2 不同乡人群血清学抗体阳性率

受检人分别来自 4 乡,色尔古乡 131 人、龙坝乡 81 人、维古乡 78 人、洛多乡 107 人,各乡的人群血清抗体阳性率分别为 13.74%、11.11%、12.82% 和 10.28%(表 1)。各乡的人群血清抗体阳性率之间的差异无统计学意义($\chi^2=0.78, P>0.05$)。

表 1 不同乡人群利什曼原虫血清学检测结果

Table 1 Serological detection of human *Leishmania* infection at different townships

乡名 Townships	受检人数 No. examined	阳性数 No. positive	阳性率(%) Positive rate(%)
色尔古乡 Serergu	131	18	13.74
龙坝乡 Longba	81	9	11.11
洛多乡 Luoduo	107	11	10.28
维古乡 Weigu	78	10	12.82
合计 Total	397	48	12.09

2.3 不同年龄组抗体阳性率

1~5 岁、6~10 岁、11~15 岁、16~20 岁和 21 岁以上各年龄组人群血清利什曼原虫抗体阳性率分别为

23.08%、11.54%、11.56%、0 和 12.87%(表 2)。16~20 岁年龄组受检人数较少,排除此组,将其他各年龄组人群血清抗体阳性率进行了两两比较,结果显示 1~5 岁年龄组人群血清抗体阳性率最高 ($\chi^2=8.06, P<0.05$), 6~10 岁、11~15 岁和 21 岁以上年龄组人群血清抗体阳性率无统计学差异 ($\chi^2=0.12, P>0.05$)。

表 2 不同年龄组人群利什曼原虫血清学检测结果

Table 2 Serological detection of human *Leishmania* infection in different age groups

年龄组 Age group	受检人数 No. examined	阳性数 No. positive	阳性率(%) Positive rate(%)
1~5	13	3	23.08
6~10	52	6	11.54
11~15	225	26	11.56
16~20	6	0	0
>21	101	13	12.87
合计 Total	397	48	12.09

2.4 不同性别人群抗体阳性率

397 人中男性 213 人,26 人抗体阳性,阳性率为 12.21%; 女性 184 人,22 人抗体阳性,阳性率为 11.96%。男女性抗体阳性数之比为 1:0.98。男女阳性率之间差异无统计学意义 ($\chi^2=0.005, P>0.05$)。

2.5 不同职业人群血清学抗体阳性率

对检测的 397 人职业进行分析,大致可区分为散居儿童、学生、教师等非农人员及农民,这些人群利什曼原虫特异抗体阳性率分别为 14.29%(3/21)、11.72%(32/273)、6.38%(3/47)和 17.86%(10/56)(表 3)。虽然农民人群的血清学抗体阳性率高于教师等非务农人员的血清学抗体阳性率,但二者差异无统计学意义 ($\chi^2=3.05, P>0.05$)。

表 3 不同职业人群利什曼原虫血清学检测结果

Table 3 Serological detection of human *Leishmania* infection in different occupation groups

职业 Occupation	受检人数 No. examined	阳性数 No. positive	阳性率(%) Positive rate(%)
散居儿童 Scattered children	21	3	14.29
学生 Student	273	32	11.72
教师等非农人员 Teacher and other nonagricultural worker	47	3	6.38
农民 Farmer	56	10	17.86
合计 Total	397	48	12.09

3 讨论

四川省黑水县历史上是内脏利什曼病重要流行区,解放后采取灭犬禁养犬等综合防治措施,20 世纪 60 年代初内脏利什曼病得到有效控制,此后 30 余年未出现病例。随后未再实施防治措施,犬的数量不断增加,再加上人员流动频繁,1995 年又出现当地感染的内脏利什曼病病例,随后病例数逐年增多,近年来每年报告病例数约 10 例(内部资料)。该地为人-犬共患型内脏利什曼病流行区,屈金辉等^[3]最近对当地犬的利什曼原虫感染状况进行了调查,显示犬的感染率较高。

本次调查采用 ELISA 法检测了 20 例内脏利什曼病患者血样,血清中利什曼原虫抗体阳性率与病原检查的阳性符合率高达 100%,而同法检测 30 例健康者血样,血清抗体均为阴性,表明此方法敏感特异。人或犬血清中利什曼原虫抗体阳性表明人或犬过去或现在感染过利什曼原虫,利什曼原虫血清抗体阳性率可以反映利什曼原虫的感染水平。

本调查结果显示色尔古乡和维古乡人群血清利什曼原虫抗体阳性率较高,而这两乡近年报告的病例数也最多,但所调查 4 乡(龙坝乡、维古乡、洛多乡和色尔古乡)人群血清抗体阳性率在统计学上无差异 ($\chi^2=0.78, P>0.05$)。本次所调查的几个乡经济发展相对落后,青壮年大都外出务工或到县城读书,因此,16~20 岁年龄组受检人数较少,排除该组,将其他各年龄组人群血清抗体阳性率进行了两两比较,结果显示 1~5 岁年龄组人群血清抗体阳性率最高 ($\chi^2=8.06, P<0.05$),6~10 岁、11~15 岁和 21 岁以上年龄组人群血清抗体阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2=0.12, P>0.05$)。而男女人群利什曼原虫血清抗体阳性率分别为 12.21% (26/213)和 11.96% (22/184),经统计学检验显示差异无统计学意义 ($\chi^2=0.005, P>0.05$)。而在职业方面虽然农民人群的血清利什曼原虫抗体阳性率最高(17.86%),教师等非务农人员的血清利什曼原虫抗体阳性率最低(6.38%),但统计学检验显示差异并无统计学意义 ($\chi^2=3.05, P>0.05$)。甘肃文县也是重要的人-犬共患型内脏利什曼病流行区,疫情一直未得到有效控制,汪俊云等^[5,6]对当地人、犬血清利什曼原虫抗体阳性率调查表明,人群的血清利什曼原虫抗体阳性率为 24.2%,犬的血清利什曼原虫抗体阳性率为 22.22%,人、犬的血清利什曼原虫抗体阳性率都非常高。与文县相比,目前黑水县人群血清利什曼原虫抗体阳性率为 12.09%,处

(下转第 175 页)

图书馆都联到互联网上;到 2000 年英国已有 24 门学科不同程度地实现了课程与网络的结合,英美等发达国家主要从硬件和实践上建立网络教学的环境^[6]。目前,我国的网络教育教学主要用于高等教育,集中在一些 211 高校,没有实现普及。齐齐哈尔医学院近两年开始尝试这一教学模式,受到了广大师生的逐步认可。网络互动教学模式,主要包含教师、学生与学习媒体资源环境的互动。这种教学方法有利于激发学生的学习兴趣,培养探索、科研精神。由于网络环境能为学习者提供图文音像并茂、丰富多彩的互动画面,能为学习者提供符合人类联想思维与联想记忆特点的、按照文本结构组织的大规模知识库与信息库,更易于激发学习者的学习兴趣,实现自己获取知识甚至创造新知识的理想目标^[7-9]。

传统的病原生物学教学主要是通过理论课讲授知识、通过实验课辅导学生了解病原生物的形态,用肉眼观察大体标本或用显微镜观察镜下标本。病原生物学网络互动课程充分利用现代教育技术和网络技术,针对传统教学的需要起辅助和补充课堂教学的作用,且优势明显:一方面,学生可以根据自己的学习情况,利用课外时间,通过网络有针对性地补缺、补差,通过网络上的多媒体课件及在线测试去解决学习过程中存在的问题,使学生的学习内涵得以丰富、外延得以扩展;另一方面可以通过网络课堂讨论进行师生交流和学生交流,有利于教学相长,而且网络互动可以减轻学生语言表达的紧迫感。与面对面交际相比,网络交流使得学生在讨论时更加轻松,更愿意表达自己的观点,因为没有其他同学盯着自己^[10]。实践表明,网络互动教学模式应用效果较好,培养了学生自主学习的能力,有机整合了多媒体课件、在线资源等的网络教学平台,为学

生提供了更好的虚拟学习环境,有效地缩短了师生之间的距离,值得在本科教学中推广应用。

参 考 文 献

- [1] 袁广卿, 黄小荣, 曹开源, 等. 临床免疫学和免疫检验实验教学资源网站的建设与应用[J]. 热带医学杂志, 2008, 8(4): 400-402.
- [2] Braine G. Teaching second and foreign language writing on LANS //Fotos S, Browne CM. New perspectives on CALL for second language classrooms[Z]. London: Lawrence Erlbaum Associates, 2004.
- [3] 王洪亮. 浅议网上教学[J]. 石家庄职业技术学院学报, 2002, 14(2): 47-48.
- [4] 朱淑华. 现代信息技术和职场元素与教学过程的整合[J]. 教育与职业, 2004(15): 55-56.
- [5] 王冲, 陈以. 网络课程教学设计的思维与原则[J]. 桂林电子科技大学学报, 2009, 29(4): 329-331.
- [6] 周小龙, 钟应华, 黄争春. 网络互动模式和传统方法在解剖学教学中的效果比较[J]. 赣南医学院学报, 2006, 26(2): 299-300.
- [7] 张敬如, 张锡林, 徐文岳, 等. 病原生物学网络课程的设计与构建[J]. 山西医科大学学报:基础医学教育版, 2009, 11(1): 107-109.
- [8] 张玲敏, 朱佩娴, 吴春云, 等. 人体寄生虫学图鉴网络课件的设计与制作[J]. 山西医科大学学报:基础医学教育版, 2007, 9(1): 2-4.
- [9] 郭善芳. 利用网络互动提高外语交际能力[J]. 湖北教育学院学报, 2007, 24(4): 126-128.
- [10] Shield L, Weininger MJ. Collaboration in a virtual world: Groupwork and the distance language learner//Robert D, Mike Levy. World CALL:global perspectives on computer assisted language learning[M]. Swets Zeitlinger, 1999: 99-116.

(收稿日期:2013-02-25)

(本文编辑:高石)

(上接第 151 页)

于较低的水平,提示黑水县当前的内脏利什曼病疫情还处于死灰复燃阶段,是开展防治工作的有利时期,一旦防治措施得当,疫情容易得到控制。否则,一旦疫情发展,则控制难度更大。

参 考 文 献

- [1] Wang JY, Cui G, Chen HT, et al. Current epidemiological profile and features of visceral leishmaniasis in People's Republic of China[J]. Parasit Vectors, 2012, 5: 31-41.
- [2] 管立人, 瞿靖琦, 柴君杰. 中国利什曼病的现状和对开展防治工作的若干建议[J]. 地方病通报, 2000, 15(3): 49-52.

- [3] 屈金辉, 赵桂华, 仲维霞, 等. 四川省黑水县利什曼原虫家犬感染率的检测[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2010, 37(4): 222-225.
- [4] Riera C, Valladares JE, Gallego M, et al. Serological and parasitological follow-up in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum* and treated with meglumine antimoniate[J]. Vet Parasitol, 1999, 84: 3-47.
- [5] 汪俊云, 冯宇, 高春花, 等. 甘肃省文县流行区人群婴儿利什曼原虫无症状感染现状[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(1): 62-64.
- [6] 汪俊云, 陈生邦, 高春花, 等. 甘肃文县婴儿利什曼原虫无症状感染犬的检测[J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(8): 734-737.

(收稿日期:2013-03-25)

(本文编辑:陈勤)