|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 11.020 |
| CCS | C62 |

|  |
| --- |
| WS |

中华人民共和国卫生行业标准

WS/TXXXXX—XXXX

代替WS/T 563—2017

血吸虫中间宿主调查 钉螺调查

Survey of intermediate host of Schistosoma spp. Survey of Oncomelania hupensis

（本草案完成时间：2025年4月16日）

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

国家疾病预防控制局  发布

1. 前言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替WS/T 563—2017《钉螺调查》，与WS/T 563—2017相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

——修改了文件名称；

——修改了文件范围（见第1章）；

——增加了“规范性引用文件”“调查原则”“调查时间”和“调查工具”4章内容（见第2章、第4章、第5章和第6章）；

——修改了“感染性钉螺”的英文名称和定义（见3.2）；

——增加了“钉螺体内血吸虫核酸检测”的相关规定（见7.2.3和附录C.3）；

——修改了钉螺生存状态鉴定方法中“温水法”的内容表述（见附录C.1.4）；

——增加了钉螺调查结果统计指标的计算方法（见附录D）；

——修改了参考文献。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家疾病预防控制局提出并归口。

本文件起草单位：安徽省疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所（国家热带病研究中心）、江苏省血吸虫病防治研究所、四川省疾病预防控制中心、江西省寄生虫病防治研究所。

本文件主要起草人：操治国、李石柱、许静、曹淳力、汪天平、张世清、杨坤、刘阳、李宜锋、张利娟。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2017年首次发布为WS/T 563—2017；

——本次为第一次修订。

血吸虫中间宿主调查 钉螺调查

* 1. 范围

本文件规定了血吸虫中间宿主钉螺调查的原则、时间、工具和方法。

本文件适用于各级疾病预防控制机构组织开展钉螺的现场调查。

* 1. 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

湖北钉螺 *Oncomelania hupensis*

日本血吸虫唯一中间宿主，属于软体动物门、腹足纲、中腹足目、圆口螺科、钉螺属，为雌雄异体、卵生、水陆两栖的淡水螺，在我国通常简称为钉螺。

感染性钉螺 infected *Oncomelania* snail

含有日本血吸虫胞蚴和（或）尾蚴的钉螺。

系统抽样调查法 systematic sampling survey

间隔固定距离设框查螺，每框面积约为0.1m2（0.33m×0.33m），框距根据调查面积和钉螺密度决定。

环境抽查调查法 environmental sampling survey

在钉螺可能孳生的环境设框查螺，每框面积约为0.1m2（0.33m×0.33m），调查框数根据环境大小确定。

全面细查法 comprehensive survey

不设调查框，全面调查环境中的钉螺孳生或分布情况。

诱螺法 attracting snail method

采用稻草帘等载体等距离放置于调查环境，引诱钉螺附着在载体上，以了解钉螺分布情况。

* 1. 调查原则

系统性原则

湖沼地区应将滩地分成若干条块并逐块调查，水网地区应按干、支、斗、农、毛渠及田块的顺序调查，山丘地区应按从源头到下游、从湿地到水凼的顺序调查，确保调查的全面性和客观性。

优先性原则

应将有钉螺孳生且人、畜常到的地域或水域作为调查的重点区域并予以优先调查，确保及时发现血吸虫病传播风险。

季节性原则

应根据钉螺的生活习性和季节性变化规律，在春季和秋季开展调查，确保调查结果的可靠性。

* 1. 调查时间

宜在3～5月和9～11月。对钉螺扩散调查、可疑携带钉螺载体的监测宜在4～10月。

* 1. 调查工具

查螺框

边长为0.33m的正方形框（框内面积约为0.1m2）。

镊子

15cm～20cm医用直镊。

螺袋

用牛皮纸制成，大小为5cm×8cm，螺袋上印刷环境名称、查螺日期、天气情况、线号、框号、查螺员等信息。

记录工具

笔和手持移动定位设备。

防护用具

防护油（霜、膏）、手套、胶靴等。

* 1. 调查方法

现场调查

* + - 1. 方法选择

根据调查目的和环境，选择合适的方法开展钉螺调查，包括系统抽样调查法、环境抽查调查法、系统抽样结合环境抽查调查法、全面细查法和诱螺法等（见附录A）。

* + - 1. 钉螺鉴别

根据形态特征，即螺壳的旋数、长度、旋向、颜色以及唇脊和厣的有无，鉴定查获的螺类是否为钉螺（见附录B）。

* + - 1. 调查记录

捡获框内全部钉螺，以框为单位装入螺袋，螺袋外标注调查环境名称、环境类型、框号和调查日期，并对环境经纬度进行定位。

实验室检测

* + - 1. 钉螺生存状态鉴定

采用压碎法、爬行法、敲击法或温水法等方法，鉴定捕获钉螺的生存状态（见附录C）。

* + - 1. 感染性钉螺检测

采用压碎镜检法或逸蚴法，检测钉螺体内是否含有日本血吸虫胞蚴或尾蚴（见附录C）。

* + - 1. 钉螺体内血吸虫核酸检测

检测钉螺体内是否含有日本血吸虫特异性核酸序列（见附录C）。

调查结果统计

根据现场调查和实验室检测结果，统计钉螺面积、感染性钉螺面积、钉螺死亡率、活螺密度、活螺框出现率、钉螺感染率、感染性钉螺密度等指标（见附录D）。

2. （规范性）  
   钉螺现场调查方法
   1. 系统抽样调查法

调查框的设置及调查线距、框距应根据调查环境类型及面积大小确定。对于河道、沟渠、池塘、洼地等环境，在常年水位线沿河道、沟渠两边、池塘边、洼地周边每间隔5m或10m等距离设框；对江湖洲滩、田地环境，在滩面、田地上设置若干平行的调查线，再沿调查线等距离设框。线距和框距可根据洲滩、田地面积大小确定，一般为5m～20m。滩地面积较大时，线距和框距可适当增加，但最大不宜超过50m；面积特别大的江湖洲滩，可以先划分成若干块，然后在每块环境进行系统抽样调查。系统抽样调查法的调查结果可用于活螺密度、感染性钉螺密度、活螺框出现率的计算。

* 1. 环境抽查调查法

根据钉螺栖息习性及植被、低洼地等环境特点，寻找可疑环境设框调查。调查框数应根据具体环境大小来确定。环境抽查调查法的调查结果可用于定性确定钉螺的分布范围和感染情况。

* 1. 系统抽样结合环境抽查调查法

系统抽样调查法未查到钉螺时，对一些可疑钉螺孳生环境进行设框抽查；或在系统抽样过程中，对适宜钉螺孳生的环境设框抽查，调查框数应足以弥补系统抽样产生的漏查误差（宜为系统抽样框数的20%以上）。系统抽样结合环境抽查调查结果可用于计算钉螺面积和感染性钉螺面积。

* 1. 全面细查法

调查时不设框，细查全部可疑钉螺孳生环境，发现钉螺后采用系统抽样调查法进行调查。一般用于确定血吸虫病流行区钉螺接近消灭的地区以及难以系统抽样的小块复杂环境。

* 1. 诱螺法

以稻草编成0.1m2大小的方帘，按系统抽样法的设框方式等距离放置于河沟的近岸水面或洲滩水面，经3d～7d后取回，检查所获成螺和幼螺。此法适于涨水期内调查洲滩或河沟螺情，还可用于对比灭螺前后稻草帘所诱获的成螺和幼螺密度，以观察灭螺效果。

1. （资料性）  
   钉螺鉴别

常见的与钉螺相似螺类主要有：方格短沟蜷（*Semisulcospira cancellata*，俗称海蛳）、真管螺（*Euphaedusa*，俗称烟管螺）、细钻螺（*Opeas gracile*，俗称菜螺）、拟钉螺（*Tricula*，俗称小黑螺）等。根据形态特征，即螺壳的旋数、长度、旋向、颜色以及唇脊和厣的有无，鉴定查获的螺类是否为钉螺，具体鉴别要点见下表：

表B.1 钉螺与相似螺类的鉴别要点

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 鉴别要点 | 钉螺 | 方格短沟蜷 | 真管螺 | 细钻螺 | 拟钉螺 |
| 螺旋数（个） | 5～9 | 12 | 10～11 | 6～8 | 5～8 |
| 长度（mm） | 5～10 | 15～28 | 10～17 | 7～9 | 3～6 |
| 旋向 | 右旋 | 右旋 | 左旋 | 右旋 | 右旋 |
| 壳色 | 暗褐色或  黄褐色 | 黄褐色 | 黄褐色 | 灰白色或乳白色 | 灰黑色 |
| 壳口 | 卵圆形 | 半卵圆形、较薄、有锯齿 | 近似三  角形 | 椭圆形 | 卵圆形，壳脐呈沟裂状或窄缝状 |
| 唇脊 | 有 | 无 | 无 | 无 | 无 |
| 厣 | 有 | 有 | 无 | 无 | 有 |
| 其他 | 假眉金黄色、阴茎较粗大，呈浅红色 | 体螺旋基部近壳口处有3条明显横纹，纵肋比钉螺稀疏，突起较为明显 | 壳口有皱褶 | 眼有柄，能伸缩 | 假眉为白色，阴茎细长。不呈红色，壳表光滑 |
| 栖息习性 | 水、陆两栖，多见于河、沟、渠、塘、田及江洲湖滩等有草的潮湿泥土上 | 水栖，常见于清凉的河、湖、渠水中 | 陆栖，常见于老墙角、树洞阴湿处 | 陆栖，常见于菜园、屋基阴湿处 | 水栖，常见于山区沟水中小石块上 |

1. （规范性）  
   实验室检测  
   1. 钉螺生存状态鉴定
      1. 压碎法

将钉螺置于平板玻璃上，每块玻片上放置钉螺若干只，钉螺相互分开，另用一块较厚的玻片将钉螺轻轻压碎，用解剖针将黏附在上面玻片上的钉螺软组织拨到下面玻片上，然后在每个螺体上加一滴脱氯清水。如压碎后钉螺有收缩反应则为活螺，反之为死螺。

* + 1. 爬行法

将草纸铺于平底瓷盘底部，在草纸中心上画直径为5cm的圆圈，瓷盘内加入少许脱氯水使草纸湿润。然后将钉螺置于草纸上的圆圈内，室温（20℃～25℃）下放置24小时后，观察钉螺爬动情况。若钉螺开厣活动或爬到圈外，则为活螺。在原位不动的钉螺，通过压碎法或敲击法鉴别钉螺是否存活。

* + 1. 敲击法

将钉螺置于平板玻璃或硬物上，用小铁锤轻击使之破碎，如见钉螺软组织有收缩反应则为活螺，反之为死螺。

* + 1. 温水法

将现场捕捉的钉螺洗净后放入盛有20℃～25℃水的平皿或瓷杯中，15min后，发现开厣活动的钉螺即为活螺，未发现开厣活动的钉螺，通过压碎法或敲击法鉴别其是否存活。

* 1. 感染性钉螺检测
     1. 压碎镜检法

将钉螺置于载玻片上，另用一张较厚的玻片将钉螺轻轻压碎，钉螺之间应保持一定距离，然后在每只钉螺加一滴脱氯清水，将钉螺置于解剖镜（×10倍）或显微镜（4×物镜、10×目镜）下，用解剖针拨开外壳，依次撕碎钉螺消化腺等软体组织，逐个观察，发现血吸虫胞蚴和（或）尾蚴即为感染性钉螺。解剖针每拨弄一次螺软组织后，应及时擦干净，防止尾蚴污染。

* + 1. 逸蚴法

将钉螺放在指形试管内，每管放一只钉螺，加脱氯水至试管口，用尼龙纱或纱罩盖好管口，防止钉螺外爬。置于20℃～25℃、光照条件下，4h～8h后, 用肉眼或放大镜在灯光下观察试管水面有无摆动或停止活动的分叉尾蚴。如鉴别不清时，可用铂金耳（或铁丝环）取表面水滴于玻片上，在解剖镜或显微镜下观察。如待检钉螺数量较多，感染率又不高时，可用较大的指管，每管放10只钉螺，对检出有感染性钉螺的指管，再按照单个螺逸蚴的方法辨别感染性钉螺。

* 1. 钉螺体内血吸虫核酸检测

钉螺处理：将待检测的钉螺置于载玻片上，用另一块较厚的玻片将钉螺轻轻压碎，尽量弃去螺壳残渣，仔细挑取钉螺软体组织至干净的离心管（1.5ml或2.0ml）内，移液器吸取适量的TE缓冲液（pH 8.0）覆盖钉螺软体组织，漩涡振荡器振荡漂洗组织，8 000r/min离心30秒，弃上清液。

核酸提取：将清洗干净的钉螺软体组织用商用或者自行配制的组织基因组提取试剂（通过研磨—勺浆组织—消化裂解—DNA结合—洗脱等步骤）提取DNA，紫外可见分光光度计测定DNA含量及纯度。亦可进一步行1.0%琼脂糖凝胶电泳测试基因组提取质量。

基因扩增：将提取的基因组DNA作为模板，以日本血吸虫特异性引物为探针，用聚合酶链式反应（polymerase chain reaction, PCR）、荧光定量PCR、环介导等温扩增技术（loop-mediated isothermal amplification，LAMP）等方法进行核酸扩增反应，通过观察有无目的条带或颜色反应等判断被检钉螺中有无血吸虫特异性核酸序列。

1. （规范性）  
   钉螺调查结果统计指标

钉螺面积

* + 1. 山丘、水网地区

钉螺面积（m2）=有螺段长度（m）×有螺段宽度（m）

* + 1. 江湖洲滩地区

总面积不超过15hm2的洲滩，发现有螺全部计算为有螺面积。总面积大于15hm2的洲滩，先确定有螺片，有螺片确定后，先计算出有螺片的长度和宽度，再将长、宽各向两端延伸50m计算有螺面积。

感染性钉螺面积

* + 1. 山丘、水网地区

感染性钉螺面积（m2）=感染性螺段长度（m）×感染性螺段宽度（m）

* + 1. 江湖洲滩地区

发现1个孤立感染性螺点，向四周各延伸50m，即按1hm2计算面积。若2个感染螺点相邻在50m以内，以2螺点距离相加，再向四周各延伸50m，计算感染性钉螺分布面积。若各感染螺点相邻超过50m，以孤立螺点计算感染螺面积。若孤立感染性螺点自然环境小于1hm2，以实际面积计算。

钉螺死亡率

钉螺死亡率（%）＝（捕获死亡钉螺数/捕获钉螺总数）×100%

活螺密度

活螺密度（只/0.1m2）＝捕获活螺数/调查框数

活螺框出现率

活螺框出现率（%）＝（活螺框数/调查框数）×100%

钉螺感染率

钉螺感染率（%）＝（感染螺数/解剖螺数）×100%

感染性钉螺密度

感染性钉螺密度（只/0.1m2）＝感染螺数/调查框数

参考文献

1. 周晓农. 实用钉螺学[M]．北京：科学出版社，2005
2. 周晓农．血吸虫病消除手册[M]．上海：上海科学技术出版社，2021.
3. 何尚英，贾春生，姚长柏，等．用稻草帘诱螺调查钉螺方法的研究[J]．中华医学杂志，1965，51：713-717.
4. 王汝波，徐兴建，肖邦忠，等. 三峡库区生态环境变化后钉螺孳生可能性的研究[J]. 热带医学杂志，2003，3（4）：399-403.
5. 操治国，汪天平，张世清，等. 钉螺在巢湖生存繁殖的模拟试验[J]. 中国血吸虫病防治杂志，2008，20（4）：281-284.