

《血吸虫病防治领域杀螺剂的室内和现场药效试验指南》摘译

金伟, 张光明, 黄殷殷, 操治国, 汪天平
安徽省血吸虫病防治研究所, 安徽 合肥 230601

摘要: 世界卫生组织(WHO)于2019年发布了《血吸虫病防治领域杀螺剂的室内和现场药效试验指南》(以下简称《指南》)。该《指南》旨在为杀螺剂的药效试验和评估提供标准化流程, 从而为所在国监管部门进行产品登记等工作提供依据。本文对该《指南》的背景以及室内试验、小规模现场试验、大规模现场试验等主要内容进行翻译, 供读者参考。

关键词: 血吸虫病; 杀螺剂; 药效试验; 指南; 世界卫生组织

中图分类号: R532.21 **文献标识码:** B **文章编号:** 1672-2302(2023)06-0305-07

DOI: 10.3969/j.issn.1672-2302.2023.06.001

An excerpt of Guideline for Laboratory and Field Trials of Molluscicides for Schistosomiasis Control

JIN Wei, ZHANG Guangming, HUANG Yinyin, CAO Zhiguo, WANG Tianping
Anhui Provincial Institute of Schistosomiasis Control, Hefei 230601, Anhui Province, China

Corresponding authors: CAO Zhiguo, E-mail: ahzhiguo@126.com; WANG Tianping, E-mail: tpwang906@163.com

Abstract: The World Health Organization (WHO) released the Guideline for Laboratory and Field Trials of Molluscicides for Schistosomiasis Control (hereinafter referred to as the "Guideline") in 2019. The Guideline aims to provide a standardized process for the efficacy test and evaluation of molluscicides, so as to provide a basis for national regulatory authorities to conduct product registration and other work. This article translates the background and three stages of laboratory studies, small-scale field trials, and large-scale field trials stipulated in the Guideline for reference.

Keywords: Schistosomiasis; Molluscicide; Efficacy test; Guideline; World Health Organization

杀螺剂是人工合成或生物来源的化学物质, 主要用于杀灭包括血吸虫的中间宿主螺类在内的各种软体动物。几十年来, 氯硝柳胺一直是杀螺剂中广泛使用的有效成分。然而, 使用基于氯硝柳胺的杀螺剂有一定的局限性, 包括在施用后须立即限制施药水域作为饮用水源, 以及其对鱼类、两栖动物和无脊椎动物等多种非靶标生物具有较强的急性毒性。随着2012年第65届世界卫生大会上WHA65.21号决议的通过, 控制和消除血吸虫病再次受到关注, 研究和开发安全性更好的新型杀螺剂也随之受到重视。尽管目前很少有证据表明螺类会对化学杀螺剂产生抗药性, 但在实际灭螺工作中, 氯硝柳胺在一些反复灭螺环境中的杀螺效果确实有所下降, 客观上对研发新型杀螺剂提出了需

求。此外, 如果能开发出对感染性螺有较高特异性的杀螺剂, 将对血吸虫病防治工作起到极大的推动作用。

早在1961年, WHO就发布了关于杀螺剂实验室筛选和现场药效试验的指导意见; 1964年, WHO在关于杀螺剂筛选和评估的调查人员非正式会议的备忘录中对此项指导意见进行了更新。此后, WHO陆续发布了一系列与血吸虫病防治领域杀螺剂有关的技术资料。如, 1965年发布的关于血吸虫病防治工作中螺类控制的系统综述以及血吸虫中间宿主相关研究的详细方法等技术资料中就包含了杀螺剂应用的具体内容; 1970年, WHO进一步对杀螺剂的相关研究提出建议并罗列了研究方向; 1992年, WHO发布了一项关于在血吸虫病防

基金项目: 安徽省重点研究与开发计划项目(2022e07020003); 安徽省卫生健康科研项目(AHWJ2022b067)

作者简介: 金伟, 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 寄生虫病防治。E-mail: 175734754@qq.com

通信作者: 操治国, E-mail: ahzhiguo@126.com; 汪天平, E-mail: tpwang906@163.com

治工作中使用杀螺剂的实用手册;2017年,WHO发布了《血吸虫病控制项目中杀螺剂的现场使用:项目管理者操作手册》。

《血吸虫病防治领域杀螺剂的室内和现场药效试验指南》^[1](译者注:本指南)对杀螺剂的室内试验、小规模现场试验以及大规模现场试验等三个阶段的试验提供了最新指导,以期为血吸虫病防治工作中科学评估新品杀螺剂的施用剂量和灭螺效果提供依据。三个阶段的研究目的见表1。

表1 杀螺剂药效评价各阶段的研究目的
Table 1 Aims of various stages of evaluation of molluscicides

阶段	试验类型	目的
I	室内试验	①建立剂量-反应曲线(确定LC ₅₀ 和LC ₉₅)
		②对成螺及螺卵的毒力(确定有效浓度和残留药效)
		③用于抗药性监测的鉴别浓度*
		④交叉抗性评估
		⑤人体危害评估*
II	小规模现场试验	①在半野外和有限的自然条件下,观察其对螺类的早期毒性和持续毒性
		②确定最佳的施药方法和剂量
III	大规模现场试验	①在大面积天然水体等环境中,观察最佳施药量下对螺类的早期毒性和持续毒性
		②观察运行情况和社会接受情况
		③记录对非靶标生物的影响

注: *以室内试验中作用24 h的99.9%或100.0%最低致死浓度的2倍作为抗药性监测的鉴别浓度;#人体危害评估参照WHO通用风险评估模型(<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/276706/9789241515047-eng.pdf>),该项内容不属于本指南涵盖范围。

1 第一阶段:室内试验

室内试验的主要目的是通过建立剂量-反应曲线评估具有杀螺活性的新型化合物的药效并确定其内在毒性。该阶段测试的主要目的和目标是:①建立对不同血吸虫中间宿主螺类的剂量-反应曲线,测定对成螺的半数致死浓度(LC₅₀)和95%致死浓度(LC₉₅);②确定对靶标螺类的最低100%致死浓度和残留药效;③为现场灭螺工作中的抗药性监测建立鉴别浓度,并对其他化合物的交叉抗性进行评估。当一种新型杀螺剂配方首次进行试验时,生产商应提供其有效成分的危害数据和人体风险评估数据,只有在通过人体风险评估后,方可进入第二阶段测试。

1.1 材料和试验条件 用于室内试验的器材主要包括容量为100 mL、500 mL和1 000 mL的玻璃烧

杯(不应使用塑料容器),以及微量移液管、移液管、一次性吸头、滴管、量筒、手套、网罩、装有脱氯水的水桶、计时器和数据记录表等。其中用于测试的脱氯水必须与常规养螺的水质同质。

1.1.1 试验对象 室内试验的生物试材主要是成螺和螺卵。对杀螺剂药效评价的最佳方法是以实验室饲养的螺类作为靶标生物,将待试杀螺剂配制成不同浓度的浸杀药液并平行设置空白对照组,以浸杀法测定靶标螺类在不同浓度下的死亡率。对难以人工饲养的螺类,应尽量从受人类活动影响最小的区域采集;野外采集的供试螺类须在实验室中使用脱氯水恢复饲养1~2周并反复逸蚴以判定其是否感染血吸虫,感染性螺不得用于药效试验。

用于室内试验的螺类须是已发育至繁殖期且活动力强的成螺,以当地所流行血吸虫病的主要媒介螺类为佳(主要有水泡螺属、双脐螺属、钉螺属和新拟钉螺属,具体见图1)。不同分组的受试螺类在发育阶段和大小上应具有可比性,其中钉螺属和水泡螺属须记录平均壳高(95%可信区间),双脐螺属须记录平均直径。如果生产商有特殊要求,也可使用幼螺进行试验。



图1 全球主要血吸虫病媒介螺类及其分布地区

Figure 1 Distribution of major intermediate snail host species of major global importance

依据生产商提供的使用指南,待试杀螺剂除可对成螺开展灭螺试验外,还可使用成螺100%致死的最低浓度对螺卵开展杀灭试验。具体做法:使用

3~5 d的螺卵作为受试对象,采用标准浸杀法(参见本文1.2.1)进行杀灭试验,在浸杀1周后,观测螺卵孵化情况并计算螺卵死亡率。每次试验须使用10个卵块并设置相同数量的空白对照。以每个卵块中未孵化的卵比例计算螺卵死亡率。

1.1.2 试验条件 杀螺效果受多种因素影响,如螺的种类、发育阶段(卵和成螺)、环境因素(如水的硬度、pH值及其他化学特性)等。为确保试验结果的可重复性,须对这些影响因素进行标准化处理。此外,待试杀螺剂中有效成分的起效速度也会影响杀螺效果,为使试验结果更加准确合理,对于起效较为缓慢的杀螺剂应延长试验时间并观察延迟死亡率。

浸杀试验中,水温要求为(25±1)℃,pH值要求为7.0±0.5,光照周期(光照:黑暗)要求为12 h:12 h;浸杀开始和结束阶段的水温及pH值均须记录。试验时,药液液面应与烧杯口平齐并使用网罩覆盖烧杯口,以防螺类逃逸或脱离触药。浸杀期间不得使用曝气装置向药液中供氧。

1.1.3 待试药液的配制 由于大部分杀螺剂的有效成分为难溶于水的有机化合物,因此,制备待试药液的第一步需先将待试杀螺剂溶解于丙酮、乙醇等有机溶剂中(具体溶剂需咨询生产商)制成稀释溶液。获取稀释液后再将其与水混溶,制成试验所需浓度的悬浮液或溶液,混溶过程中应不断轻摇或搅拌以使药液充分混匀。待试药液应即配即用。

1.2 药效测定

1.2.1 内在毒性测定 目的是测定具有杀软体动物特性物质(有效成分)的内在毒性(生物效价),具体方法为通过对水生或两栖生活的媒介螺类开展浸杀试验以生成相应的剂量-反应曲线。试验须平行设置经典杀螺剂对照组(推荐使用氯硝柳胺)和空白对照组(推荐使用脱氯水)。试验组应设置多个浓度梯度以确定该杀螺剂的有效浓度范围。螺类饲养及药液稀释均须使用脱氯水。

初次开展的浸杀试验,通常每个处理组的受试螺数量为10只,试验重复3~5次(若供试螺数量不足,重复试验次数可从5次减少为3次)。试验中,各组供试螺的分配应遵循随机性原则,试验结果应进行统计学检验。为减少外部因素和试验条件对试验结果的影响,每次重复试验的各组须在同一日的相同试验条件下同时开展平行试验。假设试验设置6个不同浓度的处理组,1个经典杀螺剂对照组和1个空白对照组,分3天分别进行3次重复试验。具体试验方案见表2。

在浸杀容器的选择上,钉螺属螺类应使用

表2 平行试验方案

Table 2 A Balanced Testing Plan

试验/对照浓度 (mg/mL)	重复试验		
	第1次试验	第2次试验	第3次试验
浓度1	第1天	第2天	第3天
浓度2	第1天	第2天	第3天
浓度3	第1天	第2天	第3天
浓度4	第1天	第2天	第3天
浓度5	第1天	第2天	第3天
浓度6	第1天	第2天	第3天
空白对照	第1天	第2天	第3天
经典杀螺剂对照	第1天	第2天	第3天

100 mL容量的烧杯;双脐螺属和水泡螺属螺类应使用500 mL容量的烧杯。标准浸杀时间为24 h,也可根据实际情况以24 h为一个周期延长浸杀时间,最长可延长至5 d。浸杀期间不得对受试螺喂食,浸杀结束后可恢复喂食。

试验应分两步开展,先在较大浓度区间内开展预试验,再根据预试验结果缩小浓度梯度范围进行正式试验。正式试验的浓度梯度设置原则应遵循2~3个较低梯度对受试螺的致死率<50%,另有2~3个较高梯度对受试螺的致死率为50%~100%,以便建立剂量-反应曲线。

1.2.1.1 死亡率观察 浸杀24 h后,将受试螺从各处理组及对照组的药液或水中取出、冲洗并使用脱氯水恢复饲养。恢复饲养24 h后可开始记录受试螺死亡情况,在此期间完全缩在壳中没有活动的受试螺可视为疑似死亡。恢复饲养24 h后,所有存活受试螺应与食物一起继续饲养并观察48 h(加上之前的24 h,该阶段共计72 h)或根据需要观察更长时间。疑似死亡的受试螺不得与活螺放在同一容器中,以免死螺腐烂降解造成活螺死亡。

恢复饲养环节结束后,应确认疑似死螺是否真正死亡。对于水泡螺属和双脐螺属,可用针刺法判断其是否有收缩反应;对于钉螺属,可将其放在两个厚载玻片之间,轻轻压碎外壳并判断其是否有收缩反应,若无收缩反应,则可判定为死亡。试验中如果空白对照组的受试螺死亡率>10%,则本次试验结果无效,须重新进行试验;如果空白对照组的死亡率≤10%,则各处理组的死亡率应按如下公式进行校正:

$$CM = \frac{X - Y}{100\% - Y} \times 100\%$$

其中,CM=校正死亡率,X=处理组死亡率,Y=空白对照组死亡率。

在求得校正死亡率后,使用log-probit或logit

回归来计算杀螺剂浓度与受试螺死亡率之间的关系方程并绘制相应剂量-反应关系曲线,通过方程或曲线求得 LC_{50} 和 LC_{95} 值。

1.2.1.2 特殊配方的杀螺剂 对毒饵类和缓释剂类杀螺剂的药效试验需要特殊的试验方法,具体方法取决于所用的杀螺剂及其包被的基质、缓释剂的释放速率以及靶标螺的摄食速率(饵料配方)等。

毒饵类杀螺剂通常是在可被靶标螺类食用的基质中掺入引诱剂和毒素,其中引诱剂可缓慢释放到水中吸引靶标螺类摄食,毒素在被靶标螺类摄入后会对其产生毒杀效果。毒饵类杀螺剂可以用与触杀类杀螺剂相同的方式进行药效试验,但需要检测受试螺的平均毒素摄入量(或对受试螺进行挨个检测)。毒饵类杀螺剂的药效试验需要对试验条件进行更严格的控制,以明确受试螺的死亡或重量减轻是否均为浸入水中的毒素造成,以及毒素是否对受试螺有驱避作用。

缓释剂类杀螺剂由惰性基质(如玻璃或橡胶)和杀螺成分组成,杀螺成分在施药后可从基质中缓慢释放到水中。此类杀螺剂的药效试验应在类似于受试螺日常饲养的条件下开展并持续较长时间。试验中,在条件允许的情况下应定期换水并对受试螺喂食。药效判定主要是对比试验组和空白对照组中受试螺的产卵、生长及存活情况。

1.2.2 药效验证和残留药效 不管是全新成分杀螺剂还是经典杀螺剂的新剂型,均应对其在最佳有效剂量下的杀螺效果进行验证。最佳有效剂量可根据剂量-反应曲线确定,也可参考生产商提供的推荐剂量。药效验证具体操作参照本文1.2.1,使用浸杀法对最佳有效剂量下的杀螺效果和残留药效进行测定。药效合格的临界值判定为在最佳有效剂量下受试螺死亡率达80%。有效残留药效是指在最佳有效剂量下,试验药液保持受试螺的致死率 $\geq 80\%$ 的持续时间。

1.3 鉴别浓度的确定 杀螺剂的鉴别浓度主要用于检测野生靶标螺是否对该杀螺剂产生了抗药性。为避免高估靶标螺野外种群的抗药性并保留适当的安全边际,鉴别浓度通常设定为实验室条件下对该杀螺剂敏感的靶标螺实测最低100%致死浓度的2倍,即如果靶标螺的野外种群在某杀螺剂2倍最低100%致死浓度条件下作用24 h仍未全部死亡,即可认为该野外种群对该杀螺剂产生了抗药性。

1.4 交叉抗性评估 交叉抗性评估是指已经对某种现有杀螺剂产生抗药性的靶标螺种群,通过浸杀

试验的方式检测其在某种新型杀螺剂作用下灭杀效果。氯硝柳胺是当下使用最为广泛的杀螺剂,目前虽无证据表明已有靶标螺种群对其产生抗药性,但其仍是最有可能用于交叉抗性评估的现有杀螺剂。

2 第二阶段:小规模现场试验

2.1 试验目标 在室内试验中药效合格的待试杀螺剂可进行下一阶段的小规模现场试验。小规模现场试验的场地首选靶标螺类有代表性的自然栖息地,若难以找到适宜的野外现场,也可在模拟自然条件的人工环境中进行。小规模现场试验应围绕室内试验测定的最佳有效浓度或生产商提供的推荐浓度设置一系列试验浓度。各处理组的浓度应按单位体积水体中(如果水体体积已知或可测量)或单位地表面积上的杀螺剂有效成分含量进行计算。小规模现场试验的目标,一是确定待试杀螺剂在不同环境中对不同螺类的灭杀效果,二是确定最佳的施药方法和施药量。

2.2 试验方法

2.2.1 试验材料 WHO于2017年发布的《血吸虫病控制项目中杀螺剂的现场使用:项目管理者操作手册》对现场试验所需基本设备、材料和个人防护用品等提供了建议。

2.2.2 试验场地 水生螺类的试验可在模拟自然条件的人工池塘或沟渠中进行,两栖螺类的试验可在自然条件下的湿地中进行(注意:此处湿地须选择既往从未开展过任何形式灭螺或其他农药播撒作业的区域)。

水生螺类的试验场地可使用人工水池,建议建造长、宽、深均为1 m的分立式水池(容积 1 m^3)。水池可在地面直接挖掘并内衬塑料布(防渗漏),也可用混凝土建造。水池中须先用厚约10 cm的泥土铺设底部,再注入经粗过滤的水并放入水生植被,泥土、水及植被均须取自受试螺的自然栖息地。完成上述操作后便可放入受试螺并开展后续试验。两栖螺类的试验场地可选择面积为 $1\text{ m}\times 1\text{ m}$ 并围以铁丝网的天然的小型池塘、水池或湿地;铁丝网应网眼紧密并设有牢固的混凝土底座,以防其他动物干扰试验区。试验区之间至少间隔2~3 m,以避免交叉污染。试验区应外设围栏以防儿童意外溺水。

每一个封闭的人工或自然环境都可视为一个独立的试验区,并按此规格重复设置。试验中应设置足够数量的处理组并平行设置空白对照组和经典杀螺剂对照组。

2.2.3 试验实施 试验应根据生产商推荐的方法进行施药,其中待试杀螺剂应按照试验设计设置一系列浓度组,经典杀螺剂对照组的浓度按照生产商推荐值设置。在小规模现场试验中,药剂使用量应予以精确控制,可根据水体体积精确计算药剂用量并使用手持喷雾器均匀播撒。根据模拟生境中的人工条件,在施药前可以给受试螺喂食,喂食方法同常规饲养。

2.2.4 受试螺投放和死亡率计算 试验的分组数量及每组的受试螺数量应咨询统计学相关专业人员,根据具体的试验设计估算样本量。受试螺可以使用人工饲养或当地野外捕获的成螺,如果受试螺为人工饲养则必须选取与当地野生螺类相同的品种,以免造成外来物种入侵。试验须通过测量外壳尺寸的方式换算并记录螺龄,其中双脐螺属或水泡螺属应测量螺壳直径,钉螺属应测量螺壳壳高。试验开始,将受试螺放入长、宽、高均为30 cm的聚乙烯网笼并浸入试验水池中,网笼与池底保持20 cm左右的空隙。浸杀24 h后取出笼子,按照本文1.2所述方法鉴定受试螺死活并计算死亡率。

2.3 药效和残留药效 小规模现场试验主要是为了获取待试杀螺剂的药效和残留药效。①药效:指受试螺浸杀24 h后的死亡率(对起效缓慢的杀螺成分可将浸杀时间适当延长)。②残留药效:按照24 h或其他时间间隔在同一浸杀池中投放新批次的笼养受试螺,浸杀72 h或更长一段时间后记录受试螺死亡率,直到期间死亡率降至80%的临界水平以下。

2.4 数据收集和分析 现场试验条件下,杀螺效果的计算指标是指受试螺减少百分比,具体计算使用Mulla公式:

$$RD=100\%-\left[\frac{C_1}{T_1}\times\frac{T_2}{C_2}\right]\times 100\%$$

RD =受试螺减少百分比; C_1 =空白对照组试验前的受试螺数量; C_2 =空白对照组试验后的剩余螺(存活螺)数量; T_1 =试验组施药前的受试螺数量; T_2 =试验组施药后剩余螺(存活螺)数量。

处理组间的差异可通过以处理和取样点数为独立因素的双因素方差分析进行比较。 RD 值要先做反正弦转换后再进行方差分析。观察和比较各处理组 RD 值维持在80%以上的天数,以确定残留药效和最佳施药剂量。此外,还要与经典杀螺药对照组进行统计学对比。

2.5 最佳现场施药剂量的选定 根据小规模现场试验结果,选择 RD 值和残留药效均可达标的最低剂量作为相应生境下的最佳现场施药剂量。杀螺频率须根据残留药效的时间长短来确定。

2.6 第二阶段试验的药效评定指标 WHO推荐的杀螺剂药效临界值是成螺浸杀后24 h(起效缓慢的杀螺成分可延长至72 h)后死亡率 $\geq 80\%$;残留药效是指受试螺死亡率保持 $\geq 80\%$ 的持续时间(d)。待试杀螺剂的效果不一定要达到或超过经典杀螺药,只要能达到WHO的要求即可。

3 第三阶段:大规模现场试验

小规模现场试验所观察到的杀螺剂药效,应在自然生境条件下生活的靶标螺野外种群中进行大规模现场试验,以做进一步验证。

3.1 试验目标 本阶段试验的目标是:①在大规模现场试验条件下,对小规模现场试验确定的最佳施药剂量的实际效果做进一步验证;②确定待试杀螺剂在自然生境中的残留药效和施药间隔时间;③了解待试杀螺剂的易用性;④了解待试杀螺剂的社会接受程度;⑤记录实操人员在施药过程中主观感受的任何不良反应;⑥了解待试杀螺剂对自然生境中非靶标生物的影响。

3.2 试验方法 对于户外现场试验,应根据国家或地方要求获得监管机构、伦理审查机构以及社区审批。

3.2.1 试验生境的选择 试验地点的选择取决于当地媒介螺类的种类及其偏好的生活环境,试验场地应涵盖有代表性的生境类型。较小的生境,如小池塘,可以在单个池塘进行试验,但要在多个池塘验证。同小规模现场试验一样,每个独立的生境可视为一个独立的重复试验点。在大面积的封闭生境中,如池塘、水池、湖泊、灌溉田和湿地等,只要试验区之间有足够的距离,就可以进行离散采样,这样基本可以防止不同试验区之间的交叉污染。在水渠和溪流等其他生境中,离散采样点应有较大间隔距离,以避免交叉污染。

每种生境类型的试验区数量可通过样本量计算来确定。通常,每种生境类型的重复试验区最小数量范围为25~30个。

在媒介螺类主要为两栖螺类的地区,应在湿地中圈出面积为 100 m^2 ($10\text{ m}\times 10\text{ m}$)的试验区块。各试验区应围以铁丝网并用木桩固定,以防受试螺从试验区逃脱。试验区块应被划分成数量足够多的区域以供处理组、空白对照组和经典杀螺剂对照组选用,各组试验区的选用应遵循随机性原则。

3.2.2 施药前靶标螺的密度评估 施药前,应在同一天至少测定1次幼螺和成螺的种群密度,采样测定完成后应及时将样本送回采样点。采样方法须

与具体生境类型以及靶标螺的水生或两栖习性相适应。

3.2.3 水生螺类采样 淡水螺类,如双脐螺和水泡螺,应使用特制的抄网或手持网筛进行横断面采样。采样应在被调查水生生境的指定区域进行,由2名技术人员分别进行15 min的调查。采样时,应将抄网或网筛沿河床底部推移,在植被生长区进行系列采样,采样应将植被一起打捞出。在大型深水水体中,可以沿着水体的周长进行采样,采样深度可达5 m,或者用船在离岸边20 m的地方进行采样。水生螺类常出现在植被上,尤其是腐烂的树叶、树枝、睡莲和废弃的塑料制品上。采集完成后,应使用镊子从采样物中将螺检出并移至特定容器中,同时进行物种鉴定。为保证可比性,每次对照组和处理组的采样应由相同技术人员进行。见图2。

3.2.4 两栖螺类采样 在每个采集地点的土壤或稀泥表面易于目视检查的地方,放置方形或圆形金属框架(查螺框),在框内区域对两栖螺类进行采样(整个采样过程中必须使用相同的框架)。沿着所调查栖息地的横截面,应采用系统抽样的方法累计采集20~50框样本。用镊子将框内的螺全部采集并放入样本管中,对活螺和死螺分别计数。为保证可比性,每次对照组和处理组的采样应由相同技术人员进行。见图2。

3.2.5 现场施药 现场施药的场地须选择在靶标螺种群的自然栖息地,施用剂量按小规模现场试验中确定的最佳剂量或生产商提供的推荐剂量。施药方法及个人防护用品的选择应与杀螺剂的具体剂型以及现场的实际特征相适应。在试验所选生境中确定的最佳剂量后续可推广至所有同类生境。试验应设置空白对照组和经典杀螺剂对照组,必须详细记录施药方法及施用剂量的计算方式。

3.2.6 杀螺效果评估 施药72 h后,可用与施药前相同的调查方法对靶标螺采样,评估受试杀螺剂的杀螺效果。施药物后的第7 d、15 d和30 d,更换采样位置对残留药效做进一步监测,也可通过从现场施药环境中取水回实验室进行试验或直接在现场施药环境中投放笼养靶标螺的方式对残留药效进行测试。结果记录须注意标准化和规范化。

3.2.7 水体状态 所有采样日均须记录试验地点水体的温度、pH值、盐度和电导率。原则上,试验地点的GPS坐标也应予以记录。

3.2.8 现场应用的可操作性和社会意见反馈 现



图2 水生螺类(上图)和两栖螺类(下图)的采样

Figure 2 Sampling of aquatic snail species and amphibious snail species

场应用可操作性主要包括以下几个方面:一是杀螺剂在户外条件下是否能便捷地进行存储、配制和使用;二是杀螺剂对施用设备(如喷雾器的喷嘴头和垫圈)的正常运行是否会有影响;三是杀螺剂的废弃包装是否易于处置,会否造成环境污染。社会意见反馈主要在试验结束时,采用问卷调查的方法对当地负责人和试验的实操人员进行调查,以了解当地及实际使用者对杀螺剂的看法和意见。

3.2.9 对非靶标生物的影响 在大规模现场试验期间,还应对杀螺操作给当地非靶标动物(如鱼类、蛙类、螃蟹类和昆虫类)所造成的死亡进行定性观察。此项工作不涉及杀螺剂的生态毒性评估,而是为防控人员提供第一手资料,以便更好地与当地居民沟通。

3.3 数据收集和分析 统计各取样点的各分组,计算抄网或查螺框单位网数或框数捕获靶标螺的平均数,数据分析可以使用广义线性混合模型或其他考虑重复测量的统计方法。

3.4 第三阶段试验的药效评定指标 按照营自由生活靶标螺在自然生境中的死亡率或密度降低幅度来评价杀螺剂的杀螺药效。WHO推荐的临界值是施药后24 h内,靶标螺成螺的死亡率 $\geq 80\%$ 。残留药效是指在杀螺剂的持续作用期内,靶标螺死亡率保持 $\geq 80\%$ 的持续天数。

需要强调的是,待试杀螺剂的药效不一定要达到或超过经典杀螺药,只需符合WHO要求即可。

(下转第320页)

- [2] Ding FY, Wang Q, Hao MM, et al. Climate drives the spatio-temporal dynamics of scrub typhus in China [J]. *Glob Chang Biol*, 2022, 28(22): 6618-6628.
- [3] 岳玉娟, 王玉姣, 李贵昌, 等. 2006—2018年中国大陆恙虫病高发区流行病学特征分析[J]. *疾病监测*, 2020, 35(4): 301-306.
- [4] 曾志伟, 韩腾伟, 刘维俊, 等. 2020年福建省恙虫病流行特征分析[J]. *热带医学杂志*, 2022, 22(9): 1295-1298.
- [5] 颜玉炳, 郭志南, 陈小平. 厦门市2010—2013年恙虫病流行特征及时空分布分析[J]. *中国社会医学杂志*, 2016, 33(4): 400-402.
- [6] 郭志南, 陈敏, 陈华芳, 等. 厦门市恙虫病流行病学特征与防控策略[J]. *中国人兽共患病学报*, 2018, 34(11): 1049-1055, 1067.
- [7] Cleveland RB, Cleveland WS, McRae JE, et al. STL: a seasonal-trend decomposition procedure based on loess [J]. *J Off Stat*, 1990, 6(1): 3-73.
- [8] Hyndman RJ, Khandakar Y. Automatic time series forecasting: the forecast package for R [J]. *J Stat Softw*, 2008, 27(3): 1-22.
- [9] Wang XZ, Smith K, Hyndman R. Characteristic-based clustering for time series data [J]. *Data Min Knowl Disc*, 2006, 13(3): 335-364.
- [10] 曾志伟, 祝寒松, 韩腾伟, 等. 福建省2014—2020年恙虫病流行特征和时空聚集性[J]. *中华疾病控制杂志*, 2023, 27(7): 858-863.
- [11] 曾志伟, 王加熊, 韩腾伟, 等. 福建省2021年恙虫病流行特征分析[J]. *海峡预防医学杂志*, 2022, 28(6): 9-11.
- [12] 彭佳, 廖羽, 张萌, 等. 广东省2006—2017年恙虫病流行特征分析[J]. *华南预防医学*, 2020, 46(5): 519-522.
- [13] 马蒙蒙, 王大虎, 鲁影, 等. 广州市2015—2019年恙虫病流行特征分析[J]. *医学动物防制*, 2021, 37(8): 744-747.
- [14] 颜玉炳, 郭志南, 陈小平. 厦门市恙虫病流行特征及发病趋势预测效果研究[J]. *中华卫生杀虫药械*, 2016, 22(3): 262-265.
- [15] 廖勇, 黄仁发, 胡晓军, 等. 2006—2017年江西省恙虫病流行病学分析[J]. *现代预防医学*, 2019, 46(7): 1167-1170.
- [16] 郭志南, 林勇, 陈国伟. 厦门市2013—2015年恙虫病流行特征和感染危险因素分析[J]. *中华卫生杀虫药械*, 2017, 23(4): 337-339.
- [17] 陈华芳, 陈国伟, 柯雪梅, 等. 厦门市2009—2012年恙虫病流行情况分析[J]. *中华卫生杀虫药械*, 2014, 20(2): 168-170.
- [18] 郭玲, 陈利, 楚侃侃, 等. 云南省祥云县2015—2019年恙虫病临床与流行病学特征分析[J]. *热带医学杂志*, 2022, 22(1): 128-132, 136.
- [19] 李文, 马德龙, 赵嘉欣, 等. 广东省恙虫病流行特征及发病风险预测[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2021, 32(3): 334-338.
- [20] 陈志高, 段雨诗, 梅树江, 等. 2006—2020年深圳市恙虫病流行特征分析[J]. *中华卫生杀虫药械*, 2022, 28(2): 174-176.
- [21] 翁达平, 刘建华, 李观庆, 等. 广东新兴县地区恙虫病的临床特征及早期诊疗恙虫病的临床价值[J]. *现代医学与健康研究电子杂志*, 2023, 7(13): 118-120.

收稿日期: 2023-10-09 本文编辑: 金伟

(上接第310页)

4 监管与伦理学问题

对于需要商品化销售的杀螺剂, 开展试验之前应事先获得所在国农药登记主管部门的监管和批准。试验的具体承担单位应向本级或上级伦理委员会提交审查材料, 在通过审查后方可开展试验。试验的现场工作人员均须获得一份有关试验产品和安全预防措施的注意事项列表。

试验单位应根据生产商提供的说明为现场操作人员配备合适的个人防护装备, 并对施药方法进行规范性培训。如果工作人员在试验中出现急性中毒, 须立即送医, 医疗费用应由试验单位承担。试验实施期间如果现场工作人员或其他对待试杀螺剂有暴露史的当地居民出现任何不良反应, 也应建议他们就近就医。

5 社区审批

试验方案须事先取得试验现场所在社区的审批, 这是试验不可或缺的流程。社区负责人应对试

验的目的、施药方法、预期结果以及对社区可能产生的影响等信息予以充分了解和掌握。原则上, 试验开始前应向当地居民进行书面或口头告知, 并劝导附近居民施药后1天或更长时间内避免进入施药环境。试验结束时, 应向社区及时反馈试验结果并确认试验终止。

志谢 本文在翻译过程中得到了皖南医学院王先寅老师的指导和帮助

利益冲突声明 全部作者声明无利益冲突

作者贡献声明 金伟、张光明、黄殷殷负责翻译, 操治国、汪天平负责审校

参考文献

- [1] World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of molluscicides for control of schistosomiasis [M/OL]. (2019-03-11) [2023-02-15]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515405>.

收稿日期: 2023-06-05 本文编辑: 钱霜霜