

利用核技术防治疟疾

辐射和分子技术能发挥预期作用

STEFFEN GROTH, BALDIP KHAN, ALAN ROBINSON 和 JORGE HENDRICHS

疟疾是最严重的昆虫传播疾病。全世界每年有 3~5 亿起疟疾临床病例,导致每年有 200 万人死亡(每 30 秒 1 人),其中 90% 以上发生在非洲撒哈拉沙漠以南地区。90% 以上感染者是 5 岁以下儿童。这种疾病对贫穷家庭造成的经济影响更大,他们往往要拿出年收入的 1/4 用于预防和控制措施。疟疾是由疟原虫这种寄生虫引起的,它们只通过雌性按蚊传播。

控制疟疾的重要战略包括通过监测抗药性来检查抗疟疾药的药效以及减少蚊子虫口。在防治疟疾的努力中,核技术能发挥重要作用。本文报道 IAEA 针对抗药性疟疾所采取的行动,描述利用放射性同位素的分子方法如何为诊断抗药性带来巨大便利。本文还介绍 IAEA 为启动一项研究计划而制订的那些计划。该研究计划旨在评估研制昆虫不育技术(SIT)作为控制疟疾载体的一种补

充办法的可行性。

检测抗药性疟疾

用药物治疗疟疾是患者处理的基础,并且很可能在很长一段时间内继续这样做。在某些地区,传播疟疾的寄生虫已经具有抗药性。因此,氯喹这种便宜的治疗疟疾药品对这种寄生虫的许多亚种而言已经不再有效。寄生虫通过膜的变化具备了抗药性,这样,一旦接触到氯喹,膜就会持续地把它排出。

在对氯喹产生抗药性的地区,疟疾感染者就需要使用其它贵一些的药物进行治疗。由于新的疟疾寄生虫变种不断地产生,并对目前使用的药物具有越来越强的抵抗力,因此,对抗药性变化的例行检查是所有疟疾控制计划中的一项基本工作。从肯

尼亚获得的初步数据表明,在某些地区,寄生虫甚至对一些较新药物也有高达 30% 的抗药性。

通过应用分子方法,极大地促进了对抗药性疟疾的诊断。聚合酶链反应(PCR)是一种可用来显示是否已具有抗药性的分子方法。在与 PCR 方法结合使用的 DOT 污斑杂化方法中,利用同位素会提高抗药性检测的灵敏度和特异性(见第 34 页方框)。

用这些分子方法,可以在数小时内显示出对某些治疗疟疾药品的抗药性。而传统方法则需要 28 天才能得出相同结论,并且需要大的现场工作组。

向成员国传播分子方法

IAEA 在肯尼亚、马里、苏丹、坦桑尼亚、赞比亚、津巴布韦和乌干达实施的一个 3

Groth 先生是 IAEA 人体健康处处长, Khan 女士是该处职员。Robinson 先生是 IAEA 塞伯斯多夫实验室昆虫学部门负责人, Hendrichs 先生是 FAO/IAEA 食品和农业核技术联合处虫害控制科科长。

分子方法在疟疾防治中的应用

聚合酶链反应(PCR) 在诊断中应用 PCR 的基本原理是,如果有一个给定的 DNA 片段,通过这种反应,它可能会增加 100 万倍,产生多得易被探测到的这种物质。这个过程是,先加热 DNA 片段,使它分成两股。接着,加一种能够复制 DNA 的、被称为 DNA 聚合酶的酶,生成原始片段的两个完整的复制品。通过重复这一过程,在短时间里,原始 DNA 片段数以百万计的复制品就产生了。附着在 DNA 片段上的放射性同位素标记核酸探针可用来识别 DNA 片段。这是一种灵敏度和特异性都很高的方法,只需一份小的血样。

基于 PCR 的 DOT 污斑杂化方法 使用这种方法可以表征寄生虫的 DNA 突变。将疟疾感染血液滴在滤纸上,并且用 PCR 放大后,从中提取 DNA。DNA 被直接“点”到尼龙膜上。利用杂化和自动射线照相方法使结果直观化。杂化使用放射性标记 DNA 探针。自动射线照相方法系指使 X 射线胶片曝光并且观察结果。使用这种方法的好处是,可以同时分析从众多血样中得到的点状物。另一个好处是,可替换这种放射性探针来探测不同的突变,因此可以按次序筛选若干种突变。这种方法可用来从患者血样中检测出这样一个少数抗药群体,其中的一大部分感染有既抗药又敏感的寄生虫。

年期的技术合作项目,最近向这些国家引入核技术来检测与抗药性有关的寄生虫突变。

这个项目也为制定和实施抗药性检测计划提供了支持,后者是有效控制疟疾所必需的。在这个项目的实施过程中,10 000 名疟疾患者得到治疗。其中,对 3000 名患者进行了研究,对收集在滤纸上的 1500 名患者的指尖血样进行了分子分析。对

这些数据的分析显示,寄生虫突变的流行程度与寄生虫对凡西达(fansidar)和氯喹等治疗疟疾药品的抗药性之间成正比关系。

分析结果显示,在对 fansidar 抗药性低(2.5%)的国家(马里和苏丹),突变频率也非常低。而对氯喹的抗药性,据报道,在肯尼亚、马里和坦桑尼亚这些国家中,突变频率高,随之而来对氯喹的抗药性也高。

现场实际结果 在马里的一次疟疾流行期中进行了氯喹和 fansidar 的分子实验。在没有显微镜分析设施的情况下,对收集在滤纸上的指尖血样进行了快速分析。在几天的时间里(常规试验需要 28 天)就有结果显示,血样中抗氯喹的突变为 75%,而抗 fansidar 的突变为零。因此,使用 fansidar 来控制传染病蔓延,并且非常有效。

这项工作的一个成果是,现在有了一个快速而强有力地大规模检测氯喹抗药性的工具。这种检测以前是不可能的,因为要投入大量的时间、费用和工作人员来进行氯喹抗药性的标准临床研究。但现在可以从大量患者处取样,为疟疾项目管理者提供更准确的资料,而这些在以前都是无法实现的。

扩大服务范围 这项计划除向非洲国家传播技术以外,还与其它国际和地区性的疟疾计划有联系。这些计划包括世界卫生组织(WHO)的消灭疟疾倡议,有关疟疾的多边倡议(MIM)以及东非疟疾治疗监测网络(EANMAT)。

作为一项副产品,IAEA 的坦桑尼亚对口单位已被指定对来自参与一个多中心项目的 9 个非洲国家的疟疾患

者样品进行基因型分类。这个项目重点是研究疟疾多渠道疗法的效能。这种疗法正受到世界卫生组织疟疾药品抗药性和方法特别工作组的支持。希望这两种抗疟疾药品——fansidar 和阿尔特弥斯宁 (artemisinin) 的结合使用能够延缓对这两种药品的抗药性的出现。这个非洲地区项目所产生的这项分子技术正被用于样品的基因型分类。

下几步 在成功建立分子生物学设施的基础上, IAEA 于 2000 年 12 月决定扩展并拓宽项目的范围, 并使新的非洲国家参与一项扩大后的地区工作。这项决定是广泛根据非洲成员国(乌干达、赞比亚和苏丹)提交的建议以及包括尼日利亚和加纳在内的其它成员国的共同兴趣做出的。制定这个项目的意图是, 让该地区较为先进和有经验的研究机构帮助缺少经验的研究机构。

尽管很多永久根除疟疾的方法正处于研发阶段, 如疫苗和载体控制, 但是这些拟定的高效检测抗药性的方法将有助于有效的病例管理, 它是 WHO 消灭疟疾倡议的首要控制战略之一。这个项目符合阿布贾宣言的要求。该宣言尤其要求建立有利于为不同流行病学层次的

昆虫不育技术(SIT)

20 世纪 50 年代以来, 实践一直证明可以通过 SIT 这种“生育控制”方法, 来控制害虫的繁殖或使之灭绝。应用 SIT 的关键是将目标昆虫集中移到大型生物工厂并大规模饲养, 通过电离辐射使之不育, 然后在持续的基础上将它们空投现场, 所投数量足以使不育昆虫与野生昆虫的比率达到远大于 1 的数值。野生的雌性昆虫与经过 SIT 处理的雄性昆虫交配后将不产生后代, 这样一来就使这个天然昆虫种群减小。

应用 SIT 的核心是全区概念, 即必须控制目标昆虫在一个区域或地区的总的种群。SIT 也不是一项可独立应用的技术。为了达到更好的效果, 它必须与其它昆虫控制方法结合使用。但 SIT 有其独特性: 其效率随目标虫口密度降低而增加, 如果在全区连续对许多代昆虫应用这种技术, 可以最终灭绝这种昆虫。SIT 还是对环境最有利的一种昆虫控制方法, 因为它是完全因昆虫而异的, 只使目标昆虫不能繁殖, 从而仅起到控制其虫口的作用。

用 SIT 治蚊现场实验 过去, 曾几次尝试开发用于治蚊的 SIT, 并取得程度不一的成功。这些尝试包括下述现场实验:

致乏库蚊	印度, 1962 年
致乏尖音库蚊	美国佛罗里达州, 1970 年
致乏尖音库蚊	印度, 1975 年
跗斑库蚊	美国加利福尼亚州, 1965 年
跗斑库蚊	美国加利福尼亚州, 1980 年
埃及伊蚊	美国佛罗里达州, 1962 年
四斑按蚊	美国佛罗里达州, 1962 年
白魔按蚊	萨尔瓦多, 1975 年

决策者提供可靠信息的机制, 以便卫生主管部门能够制定适当的控制和监视战略。

这个项目的总目标是, 将几种基本的同位素分子技术作为基本手段, 使各研究机构在使用更先进、自动化和可能的非同位素技术方面

达到一个更加可靠和更有能力的水平, 以解决主要的公众健康问题。为强化这方面的工作, 这个项目将在与 WHO 的密切合作下运转。

控制疟蚊

SIT 已被证明是一种能

够有效控制和/或根除某些主要害虫(如动物锥虫病)的载体采采蝇)的技术。因此,在过去的10年里,成员国不断要求研制这项技术来控制疟蚊。

人们已有几次试图开发用来消灭按蚊的SIT,并且已有不同程度的成功或失败。开发任何新方法的人,都能从这些早期经验以及这些早期现场试验以来所取得的重大SIT技术改进中学到很多。IAEA 委人编写的两份咨询报告为SIT试验建议了几种候选蚊种,并建议在几个可能的目标地区进行SIT初步现场试验。但是它们强调说,在开始这一阶段工作前,必须首先排除与SIT几个关键部分相关的重大技术障碍。

为此,正如许多成员国以及2000年9月大会的一项决议(GC-44/24)所要求的那样,IAEA已决定开展对疟疾的一种重要载体使用SIT技术的可行性研究。这项研发工作将首先着重于阿拉伯按蚊。它是传播疟疾的一种主要蚊种,是非洲有按蚊分布的一些大的地区的惟一疟疾载体。

可行性研究 可行性研究将针对以下几点技术障碍:

■ **研究大规模饲养的高效方法** SIT的应用要求大规模高效饲养质量好的昆虫,对其进行绝育后放入野

外。对按蚊而言,最需要改进的是幼虫的饲养和蛹的收集。这两个阶段都是在水上作业,较难应用大规模生产技术。维持大量长成的蚊子来产卵不存在大问题,膜喂养的体系也已成形。

■ **绝育、饲养和释放方法的改进** 需要开发多种辐射方法,来生产质量合乎需要的不育雄蚊。过去,这方面一直存在困难,需要用改进的方法来有效地使雄蛹或成蚊不育。开展全区性蚊子SIT计划,将需要用飞机大面积投撒这种不育昆虫。有待观察的是,投撒蚊子这样的脆弱昆虫是否可行,或者是否需要考虑涉及不育蛹投撒的技术。

■ **设计雄蚊生产的遗传和分子方法** 任何针对蚊子的SIT计划都需要仅释放雄蚊,以免释放出不育的雌蚊后会更广泛地传播疟疾,因为只有雌蚊才能传播疟疾。在20世纪70年代,曾利用传统的孟德尔式遗传学理论为多种按蚊开发出遗传性别鉴定方法,而且与地中海果蝇有关的经验已经证明这种作法对于大规模饲养雄性昆虫是可行的。尽管目前许多实验室正在借助分子技术开发按蚊遗传性别鉴定方法技术,但现在还没有已被证明的成熟方法。没有强有力的性别鉴定方法,SIT的使用将大打折扣。

■ **SIT和其它按蚊控制方法结合** SIT并不是一个可独立应用的技术,它必须与其它虫口控制方法结合使用。WHO正在提倡使用的经杀虫剂处理的床网,目前被广泛用于控制蚊子,并且正在其使用的有效性和成本上进行重大改进。这种网为雌按蚊进攻人类竖起了一个致命的障碍。由于这种方法针对雌蚊,因此它对于同时释放不育雄蚊毫不妨碍,这样一来,目标种群便受到两种干预。甚至屋内喷雾方法也是针对雌蚊的。所以这里也有与不育雄蚊释放相结合的可能性。

未来方向 包括WHO在内的许多机构非常重视设法从基因上去控制蚊子,使其不能传播疟疾,以便达到种群置换的目的,尽管一些医学昆虫学家不以为然。有人建议,先往一个目标种群中加入相对少量的遗传控制的蚊子,让其在这个种群中积极传播这种不育特性,从而实现种群置换。

由于目前还没有成熟的机制可完成这种置换,因而可以想象将需要大规模释放不育蚊子。所以,本文所概述的饲养和释放方法届时将非常重要。

对于用不育雌蚊传送疫苗,人们也在予以认真考虑。这里,也将需要使用大规模饲养和释放技术。 □