

# 及早警报

Sándor Belák

禽流感已波及到51个国家，仅今年就有36个，其中许多国家人口稠密和极端贫困。

## 核技术能帮助检测这类传染病吗？

**高**度传染性的动物疾病成为日益关切的跨界威胁。

这类疾病包括口蹄疫、猪瘟、牛瘟以及成为众多头版标题的高致病性禽流行性感胃或“禽感冒”。这些疾病被专家称作跨界动物疾病，在世界各地经常发作和反复发作。它们可造成数十亿美元的损失，威胁数百万贫困养殖家庭及其邻里的健康、生命和生计。

单在过去的18个月内，世界动物健康组织国际兽医办公室就曾报告几个洲内大量跨界动物疾病的爆发，包括非洲、亚洲和南美洲的口蹄疫；非洲、亚洲和欧洲的传统猪瘟；以及非洲和亚洲的牛瘟。另外，最近还有大量媒体报道在亚洲、非洲和欧洲严重爆发高致病性禽流感。导致许多禽类、动物和人感染疾病，数百万例死亡。

应该审视一下跨界动物疾病给疾病控制工作和生活损失所造成的代价。例如，就2001年英国爆发口蹄疫来说，公共部门所付出的代价估计为45亿多欧元，私营部门所付出的代价超过75亿欧元。在根除战略下提出的道德问题和屠宰大量动物的社会后果只是评价这些险恶疾病的影响时要考虑的隐匿代价的一部分。

今天更多的组织和专家正在携手预防和抗击跨界动物疾病。他们包括兽医检疫部门、研究所以及国际原子能机构和联合国粮食农业组织等国际组织。国际原子能机构和联合国粮食农业组织在奥地利维也纳建立了一个联合处。这个联合处正在努力利用核技术和辐射技术迅速检测禽流感等新兴疾病。

这些问题是严重而复杂的，但是核技术可以提供一个解决方案。

对于大多数发展中国家来说，跨界动物疾病检测仍然是至关重要的。阻碍和困难是它们不能迅速地检测病毒和及早判定是否为H5N1型病毒还是另一种亚型病毒从而使主管部门能够采取适当的防治措施。重要的努力集中在病原体的早期检测上。及时识别这类病毒感染将预防这些疾病在广大地理区域中的大量动物群中的传播。因此，开发新的具有强大功效的核和核相关诊断检验技术是今天兽医研究和动物保健中的一个紧要问题。

分子病毒学可以提供宽泛的新方法，它们能够促进和提高动物和人中的传染病诊断。象聚合酶链式反应之类的分子检测分析技术为非常快速地诊断提供了可能。病毒检测可以在几小时甚至有希望在几分钟内完成，灵敏度水平不到一个病原体。

分子方法已经为迅速检测业已确认的以及新出现的传染性病原体（如尼派病毒和亨德拉病毒或萨斯病冠状病毒）和检测目前威胁世界的高致病性禽流感H5N1亚型病毒并进行分子表征做出了重大的贡献。核酸放大分析尽管开始时比较昂贵和麻烦，但是已经成为诊断实验室中比较便宜和用户友好的工具。

瑞典早在1987年，即首次描述聚合酶链式反应原理刚刚两年后，就建立了第一个聚合酶链式反应检验诊断实验室。在过去的20年中，这个实验室进行了50多次的聚合酶链式反应检验并对这些检验结果进行了确认，目前这种检验方法经常用于这个诊断实验室。

检验不同病毒的基因相关性的目的不是实现广泛的检测，而是得到特别病毒或分离菌的高度系统发育重建或指纹。为此，这些病毒的基因组可变区成为

研究目标，它们可以给出常常表明原始感染来源的病毒演变的方向，这类系统发育聚合酶链式反应检验被用于瘟病毒（包括传统的猪瘟病毒和牛病毒性腹泻病毒）的分组和致病分离菌（恰当的例子如H5N1）的分类。

高度系统发育重建的聚合酶链式反应检验是迅速鉴别不同病毒变体的有用工具。基因鉴别非常准确和迅速（几天或几小时）。病毒变体的传播可以跟踪和迅速切断，以防病毒散发到大的地理区域。

病毒的迅速系统发育鉴别和跟踪被称作“分子兽医学”。例如，当在中欧的几个国家确定了传统的猪瘟病毒遗传性变型以及假设欧盟和美国的猪呼吸和生殖综合症病毒的基因型是从东欧发现的共同原始粒子演变而来的时候，进行了这类研究。

聚合酶链式反应实时检验提供了新的迅速检测病毒的手段。通过利用机器人进行核酸提取和注吸可以使诊断工作进一步自动化。与上述的放大检验相比，聚合酶链式反应实时检验还有一点好处：它使定量的聚合酶链式反应不断进行，从而可以估计病毒负荷（血液中的病毒数量）。当动物中常见病毒正可能造成与病毒负荷（例如猫冠状病毒或猪圆环病毒）有关症状时，定量方面十分重要。在估计反病毒处理，特别是在人类病毒学中的反病毒处理的影响时，测量病毒负荷同样重要。

为确保诊断性聚合酶链式反应检验的可靠性，重要的是把内标包括进来。通过把这样的具有其特定指示器荧光团的内标包括进来，我们可以得到有关样品质量和注吸误差的信息。同时，这个系统还可以显示目标核苷酸序列的放大和为诊断提供安全性。

今天，国家和国际主管部门都需要严格证明诊断检验尽可能可靠。像国际兽医办公室、联合国粮农组织和国际原子能机构等国际机构、国家研究机构和商业公司正在尽最大努力商定国际标准化。

考虑到这些要求，诊断实验室已经启动聚合酶链式反应常规诊断检验的验证和标准化工作。例如，EN ISO/IEC 17025:2000标准给出了实验室获得认证的方针，规定了许多重要的参数。国际兽医办公室也于2000年为兽医领域诊断检验的验证颁布了一项标准。

我们可以多快地鉴别和表征像禽流感这样的致病病毒呢？

利用分子方法，时间是一两天，比常规方法快很多。在瑞典，已经为迅速和同时检测许多流感病毒，包括与高致病禽流感有关的流感病毒，开发了聚合酶链式反应一步、实时检验法。

迅速鉴别和检测可以起到早期警报的作用，尤其对于发展中国家十分需要。同时检测禽流感的不同亚型病毒可以使主管部门监测野鸟、饲养家禽和哺乳动物种类中的流行性感菌株的发生。这种方法为诊断世界最恶劣的跨界动物疾病提供了一种非常迅速和高度可靠的分子工具。

---

Sándor Belák供职于瑞典农业大学病毒学系与国家兽医学会在瑞典乌普萨拉联合运作的研究和开发部。电子信箱：sandor.belak@sva.se。

## 禽流感背景资料

**技术上，禽流行性感或“禽流感”称为亚型H5N1禽流感。**

目前的禽流感爆发始于2004年亚洲，由H5亚型病毒所引起。另外，这种病毒特征与N1亚型有关。一项重要发现显示这种流感对人类可能是致命的。

禽流感由动物感染流行性感A型病毒的一些菌株所引起。这些菌株根据其两种外蛋白即血细胞凝集素（H型）和神经氨酸苷酶（N型）被分成若干亚型。

病毒如何被识别和检测的呢？通常，病毒先从病理标本中隔离并放入鸡蛋胚胎中。这需要4天到7天的时间。然后被隔离病毒的亚型必须通过对照不同的H型和N型蛋白培养的一连串特异性抗体加以识别。

识别只能在专门实验室进行。为证实亚型的致病性，隔离的病毒（分离菌）随后必须接种到4周至8周大小并且易感染这种病毒的小鸡上。菌株如果在10天内使接种小鸡造成75%以上的死亡率，则被认为是高致病性的。

一个大问题是现有的检测过程耗费时间。幸运的是，在国际原子能机构、联合国粮农组织及其他研究所和组织的支持下，一些更快速的检测方法正被开发出来。