

platelet effects of prasugrel as compared to clopidogrel reflect more efficient generation of its active metabolite with similar antiplatelet activity to that of clopidogrel's active metabolite[J]. J Thromb Haemost, 2007, 5(7):1545-1551.

[24] von Beckerath N, Kastrati A, Wiecek A, et al. A double-blind, randomized study on platelet aggregation in patients treated with a daily dose of 150 or 75 mg of clopidogrel for 30 days[J]. Eur Heart J, 2007, 28(15):1814-1819.

[25] Geisler T, Anders N, Paterok M, et al. Platelet response to clopidogrel is attenuated in diabetic patients undergoing coronary stent implantation[J]. Diabetes Care, 2007, 30(2):372-374.

[26] Michelson AD, Linden MD, Furman MI, et al. Evidence that pre-existent variability in platelet response to ADP accounts for 'clopidogrel resistance'[J]. J Thromb Haemost, 2007, 5(1):75-81.

(收稿日期:2012-11-03)

• 综 述 •

新发传染病及其检测方法研究进展

陈 琪¹综述, 殷 和²审校

(1. 中国人民解放军第十二医院检验科, 新疆疏勒 8442003;

2. 中国人民解放军第四医院检验科, 青海西宁 810007)

关键词: 传染病; 实验室技术和方法; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 07. 042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)07-0846-03

新发传染病是指近年来出现的新型病原微生物所致的传染病。新发传染病种类繁多, 发展迅速, 传染性和死亡率高^[1]。新发传染病的病原体包括病毒、立克次体、细菌、衣原体、螺旋体以及寄生虫等, 特别以病毒居多。由于人类对新发传染病认识不足, 往往无法在疾病流行早期快速检测病原体, 而且因为人类对大多新发传染病无天然免疫力, 往往造成世界范围内的大规模流行^[2-3]。由此可见, 新发传染病的快速准确检测在其防治中至关重要。本文就近年来有关新发传染病的检测方法作一综述。

1 埃博拉出血热及其实验室检测方法

1.1 埃博拉出血热简介 1976 年最先在非洲扎伊尔一村落发生埃博拉出血热(EBHF)的暴发流行并造成数百人死亡。EBHF 为仅次于狂犬病的高病死率急性病毒性传染病, 病死率约 88%^[4]。现在已知的埃博拉病毒(EBOV)可分为扎伊尔型、苏丹型、本迪布焦型、科特迪瓦型、莱斯顿型等 5 种亚型, 这 5 种亚型对人均有感染性, 其中 4 种亚型病毒对人有强致死性。

1.2 EBOV 的实验室检测方法 分子生物学的技术的发展为 EBOV 的检测和特性分析提供了可靠、快速的技术手段。RT-PCR 及实时 RT-PCR 技术, 均可用于该病毒的早期诊断^[5]。目前, 已有多个实验室根据 EBOV 病毒的编码基因设计了特异性的引物或核酸探针, 其敏感性和特异性比传统检测方法更高, 而且更加简便快速, 已在多次 EBHF 暴发或流行中得到应用。该方法采集患者样品后, 提取总 RNA 后, 构建基因扩增反应体系, 检测样品中的 EBOV 核酸。

2 传染性非典型肺炎及其实验室检测方法

2.1 非典型肺炎(SARS)简介 SARS 是一种由冠状病毒引起的新型呼吸系统传染性疾病。可经近距离飞沫传播, 感染时伴有发热、头痛、肌肉酸痛、乏力等症状与普通流感极其相似^[6]。该病因其传染性极强, 因此在 2003 年在我国境内的大规模流行, 期间报告的病例中平均死亡率为 9.3%。2003 年 4

月 16 日世界卫生组织(WHO)宣布, 该单股正链 RNA 冠状病毒为 SARS 的病原, 将其命名为 SARS 冠状病毒(SARS-CoV)。

2.2 SARS-CoV 的实验室检测方法 SARS-CoV 分子诊断方法, 目前常用的有逆转录 PCR、套式 RT-PCR 和 RT-PCR^[7]。RT-PCR 可在患者感染初期没有产生抗体之前就能通过对血清的检测来为临床确诊提供依据。RT-PCR 方法灵敏度和特异性极高, 可进行 SARS-CoV 感染的早期检测, 从而实现对高危人群和可疑患者批量快速的筛查。

军事医学科学院的专家通过对 SARS 病毒的全序列进行分析, 对克隆的 10 个基因中的 5 个基因进行蛋白质表达, 经筛选发现其中 3 个蛋白质可与患者血清中的相应抗体进行特异性结合。基于该原理成功地建立了“非典病毒多抗体检测蛋白芯片”。该芯片可对 SARS 的 5 种抗原的抗体同时进行检测, 而且每种抗体可同时重复检测。这种检测方法需要的检测样品少、稳定性好、灵敏度高、实现了平行检测, 有很大的利用价值。

3 登革热及其实验室检测方法

3.1 登革热简介 登革热是一种由登革热病毒引起的恶性传染病, 主要的传染源是患者和阴性感染者。登革热常见的临床症状为发热、寒战、全身肌肉、出血、骨髓及关节痛, 极度疲乏, 甚至可出现皮疹和淋巴结肿大。该病 1779 年在埃及开罗等地发现, 于 1869 年英国伦敦皇家内科学会命名为登革热。

3.2 登革病毒的实验室检测方法 1990 年法国科学家第 1 次运用 PCR 技术成功检测登革病毒, 目前已形成针对不同亚型登革病毒的 PCR 检测技术。巴西科学家运用嵌套式 PCR 和逆转录 PCR(RT-PCR)对登革病毒的各亚型进行了检测和血清学分类, 并把该结果与 IgM 抗体捕捉 ELISA 法进行比较分析。研究结果表明, 登革病毒感染 5~6 h 后, 运用 PCR 技术即可检出, 感染 2 d 后, 既可以利用 PCR 对病毒进行分型。

但在登革热发病 7 d 后,运用 MAC-ELISA 法检测比运用 PCR 技术检测的敏感性高。由此可见 PCR 技术在病毒感染的初期敏感性较高^[8]。

目前,外国科学家正在研发一种还处于试验阶段的检测登革热病毒的技术,该技术是环形介导等温扩增(LAMP),利用这种方法可以在恒温条件下对登革热病毒 RNA 进行测定。他们已经设计出了可以检测各型登革热病毒的引物,这种检测手段用来检测登革热病毒更加稳定、灵敏^[9]。

4 甲型 H1N1 流感及其实验室检测方法

4.1 甲型 H1N1 流感简介 甲型 H1N1 流感为急性呼吸道传染病,是由甲型 H1N1 流感病毒所引起的,在人群中极易传播^[10]。该病毒毒株有人流感、猪流感和禽流感三种流感病毒的基因片段^[11]。甲型 H1N1 流感是在 2009 年开始在全球流行的^[12-14]。WHO 于 2010 年 8 月宣布甲型 H1N1 流感大流行期已经结束。

4.2 甲型 H1N1 流感病毒的实验室检测方法 2010 年有研究者利用荧光定量 PCR 筛查了 150 例疑似流感患者咽拭子中甲型流感病毒, H1N1 病毒阳性率为 36%。同时他们采用胶体金法对上述检测阳性的 54 例患者进行 H1N1 病毒核心蛋白的检测,其结果均为阴性。所以利用荧光定量 PCR 技术在筛查 H1N1 病毒中有非常重要的作用且优于胶体金方法^[15]。

沈阳农业大学的孙珊珊等^[16]建立了检测甲型 H1N1 和季节性 H1N1 流感病毒的 DNA 微阵列技术,并探讨了该方法用于检测临床样本的可行性。试验所设计的探针可以对甲型 H1N1 流感与季节性 H1N1 流感病毒进行区分,用该方法检测了长春市疾控中心送检的 6 份疑似甲型 H1N1 流感病毒临床病例,4 份阳性,检测结果同实时荧光定量 PCR 方法一致。结果表明,该方法特异性和灵敏性强,可作为甲型 H1N1 流感病毒临床标本的检测方法。

5 西尼罗热及其实验室检测方法

5.1 西尼罗热简介 西尼罗热是在 1937 年乌干达的西尼罗地区发现的,是一种由西尼罗病毒感染引起的人畜共患的急性传染病^[17]。近几十年来,西尼罗热在全球范围内广泛流行并引发了许多脑膜炎和脑炎病例^[18]。其潜伏期一般为 1~6 d,感染后可引起西尼罗热和西尼罗脑膜炎^[19]。

5.2 西尼罗病毒的实验室检测方法 ELISA 法在新发传染病的检测中是非常有效的手段之一,其在科研和临床诊断中具有深远的意义^[20-21]。ELISA 法检测血清和脑脊液中西尼罗病毒(WNV)的 IgM 和 IgG 抗体,具有快速、灵敏性高等优点,在感染 8 d 内检测敏感性高达 90%,因此在很多实验室 ELISA 方法已替代了补体结合实验和血凝抑制试验来检测 WNV 病毒。目前,ELISA 是诊断 WNV 的最常用方法之一^[22]。

6 人感染猪链球菌病及其实验室检测方法

6.1 人感染猪链球菌病猪链球菌简介 人感染猪链球菌病是由猪链球菌、马链球菌兽疫亚种、马链球菌马亚种等侵害猪的上呼吸道、生殖道、消化道等组织而引起的一种疾病。猪链球菌 4 型感染广泛发生于各养猪发达国家。患者大多直接与猪有接触史,且有皮肤伤病的发生。

6.2 人感染猪链球菌病实验室检测方法 猪链球菌病的诊断主要包括细菌分离鉴定、血清学方法和分子生物学方法等。最

初,鉴别诊断的方法主要是利用分型诊断血清进行乳胶或玻片凝集试验来确定猪链球菌的型别。但是,由于猪链球菌不同血清型菌株之间以及血清型不同的不同菌株间存在着很大的遗传多样性和变异,血清型与致病力之间没有必然的相关性,单独的血清学方法已不能准确地将猪链球菌进行分型^[23]。近年来,中国检验检疫科学研究院建立的猪链球菌/型毒力因子 MRP 和 EF 的多重荧光 PCR 检测方法,检测培养菌液中相关基因的敏感性为 20 CFU,检测组织中相关基因的敏感性为 100 CFU,而且特异性很好,与其他种链球菌及大肠杆菌等没有交叉反应^[24]。

7 展 望

近年来,新发传染病的发病率呈上升趋势,传统的检测手段已不能满足新发传染病快速准确诊断的需要。随着生物技术的发展,新发传染病病原体的检测方法从分离培养到免疫学检测,再到基因诊断为临床诊断带来了许多便利。但是也注意到目前新的检测手段虽然不断涌现,但现有检测方法均有一定的缺陷和不足。对于新发传染病病原微生物的来源、传播及快速、有效、灵敏的诊断技术还有待于进一步探索。相信不久的将来,通过对新发传染病病原体的深入研究,不仅能阐明病原微生物的致病机制,确定它与疾病的关系,而且还能为新发传染病的诊断和治疗开辟新的途径。

参考文献

- [1] 杨晓丽. 新发传染病现状分析及应急对策[J]. 中国中医药咨讯, 2011, 3(23): 410.
- [2] 梁之祥. 新发传染病研究概况[J]. 实用医药杂志, 2010, 27(10): 950-952.
- [3] 邵家胜, 卢洪洲. 新发传染病发病研究概述[J]. 诊断学理论与实践, 2011, 10(3): 293-296.
- [4] 许黎黎, 张连峰. 埃博拉出血热及埃博拉病毒的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(1): 70-74.
- [5] 李小波, 相大鹏. 埃博拉出血热及其实验室检测研究方法[J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(9): 899-901.
- [6] 胡厚源, 李敏, 周林. 应对方式和社会支持对传染性非典型肺炎患者心理状况的影响[J]. 中国临床康复, 2004, 8(6): 1022-1023.
- [7] 陈宏斌, 王辉. 非典型病原体的实验室检测技术及其临床应用前景[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33(7): 540-543.
- [8] Shukla J, Saxena D, Rathinam S, et al. Molecular detection and characterization of West Nile virus associated with multifocal retinitis in patients from southern India[J]. Int J Infect Dis, 2012, 16(1): e53-59.
- [9] Lu X, Li X, Mo Z, et al. Rapid identification of chikungunya and dengue virus by a real-time Reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification method[J]. Am J Trop Med Hyg, 2012, 87(5): 947-953.
- [10] Esposito C, Di SA, Cuomo N, et al. Tracking the 2009 H1N1 influenza virus in the Italian region Campania[J]. J Cell Physiol, 2012, 227(7): 2813-2817.
- [11] Lee N, Chan PK, Wong CK, et al. Viral clearance and inflammatory response patterns in adults hospitalized for pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus pneumonia[J]. Antivir Ther, 2011, 16(2): 237-247.

- [12] Cheng VC, To KK, Tse H, et al. Two years after pandemic influenza A/2009/H1N1: what have we learned? [J]. Clin Microbiol Rev, 2012, 25(2): 223-263.
- [13] Hurt AC, Chotpitayasonndh T, Cox NJ, et al. Antiviral resistance during the 2009 influenza A H1N1 pandemic: public health, laboratory, and clinical perspectives[J]. Lancet Infect Dis, 2012, 12(3): 240-248.
- [14] Kumar S, Henrickson KJ. Update on influenza diagnostics: lessons from the novel H1N1 influenza A pandemic[J]. Clin Microbiol Rev, 2012, 25(2): 344-361.
- [15] 陈双峰, 陈海英, 张颖新, 等. 实时荧光 RT-PCR 检测不同标本中甲型 H1N1 流感病毒核酸的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 861-863.
- [16] 孙珊珊, 沈国顺, 田明亮, 等. 甲型 H1N1 与季节性 H1N1 流感病毒检测基因芯片的制备与初步应用[J]. 中国兽医学报, 2010, 30(5): 634-638.
- [17] Arjona A, Wang P, Montgomery RR, et al. Innate immune control of West Nile virus infection[J]. Cell Microbiol, 2011, 13(11): 1648-1658.
- [18] Pesko KN, Ebel GD. West Nile virus population genetics and evolution[J]. Infect Genet Evol, 2012, 12(2): 181-190.
- [19] Kilpatrick AM. Globalization, land use, and the invasion of West Nile virus[J]. Science, 2011, 334(6054): 323-327.
- [20] Aslan M, Kocazeybek B, Turan N, et al. Investigation of schizophrenic patients from Istanbul, Turkey for the presence of West Nile virus[J]. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 2012, 262(2): 173-177.
- [21] 滕娟, 徐云庆, 史蕾. 西尼罗病毒检测技术研究进展[J]. 中华预防医学杂志, 2011, 45(3): 273-277.
- [22] Hirota J, Shimoji Y, Shimizu S. New sensitive competitive enzyme-linked immunosorbent assay using a monoclonal antibody against nonstructural protein 1 of West Nile virus NY99[J]. Clin Vaccine Immunol, 2012, 19(2): 277-283.
- [23] 尹建雯, 徐闻, 古文鹏, 等. 云南省首例人感染猪链球菌病的病原学分析[J]. 应用预防医学, 2012, 18(2): 78-80.
- [24] 王彩霞, 查成刚, 吴绍强, 等. 猪链球菌 2 型 LUX 荧光 PCR 检测方法的建立[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(12): 45-48.

(收稿日期: 2012-11-07)

• 综 述 •

胰岛素样生长因子-1 的研究进展

李江综述, 董作亮 审校

(天津医科大学总医院医学检验科, 天津 300052)

关键词: 胰岛素样生长因子; 受体, 胰岛素; 肿瘤**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.043**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2013)07-0848-03

胰岛素样生长因子(IGFs)是一类多肽类生长因子。在细胞的增殖、分化、个体生长发育中有重要作用。其中 IGF-1 是一种与机体组织分化、增殖和成熟有关的重要细胞因子, 也被称作“促生长因子”, 是一种在分子结构上与胰岛素类似的多肽蛋白质, 它具有保护神经细胞、抑制其凋亡的作用, 在婴儿的生长和在成人体内持续进行合成代谢作用上具有重要意义。

1 IGF-1 的背景及生物学特点

1.1 背景概述 从 1957 年 Salmon 和 Daughaday 发现并报道这类因子开始, 对其的关注和研究不断深入, 不但 IGFs, 而且 IGF 的相关受体(IGF-R)、结合蛋白(IGFBP)及 IGFBP 蛋白酶都被涉及。再有重组 IGF-1 生物制品的研制, 为其在疾病诊治及病因探讨方面的研究拓宽了视野^[1]。本文就此因子最新研究进展做一综述。

1.2 IGF-1 的生物学特征 IGF-1 是由 70 个氨基酸组成的多肽链, 具有内分泌、自分泌及旁分泌等特性, 其 48% 与胰岛素具同源性, I 级结构由 A、B、C 和 D 4 个结构域, A、B 两区同源各达 60% 至 70%, C、D 两区是由 8 个氨基酸组成的羧基末端和较长的 N 末端组成, 相对分子质量约为 7.5 ku, 主要由肝细胞合成和分泌, 对机体生长发育起重要调节作用^[2-3]。

IGF-1 基因位于人类第 12 号染色体, 含有至少 3 个内显

子 5 个外显子, 其中两个外显子上含有编码 IGF-1 蛋白的序列, IGF-1 的 mRNA 存在自身变异, 即由第 3 和第 4、第 5 外显子分别拼接而成 A、B 两种。

IGF-1 受体与胰岛素受体家族同源, 有 50% 氨基酸序列相似, IGF-1 通常通过受体才能发挥作用^[4]。该受体由两个 α 亚单位和两个 β 亚单位组成, α 亚单位位于膜外, 有与 IGF-1 肽结合的位点, β 亚单位位于膜内, 完成透膜信号, 且具有酪氨酸蛋白激酶活力。

2 IGF-1 的分析与检测

随着科技的不断发展, IGF-1 的检测手段也不断更新。目前检测方法有放免法, 酶免法, 化学发光免疫法, 色谱法以及色谱-质谱联用技术, 表面等离子体共振传感器等方法。其中临床常用的主要是前三种。具有简单方便, 灵敏度、准确度较高等优点。但是 IGF-1 的内源性和外源性尚无有效方法区分。因此, 发展灵敏度更高、检测速度更快、高通量、高准确度的 IGF-1 检测方法值得期待。

3 IGF-1 的检测与临床意义

3.1 IGF-1 与乳腺癌细胞放射增敏作用 胰岛素样生长因子-1 受体(IGF-1R)在多种肿瘤中存在过表达, 并与肿瘤细胞增殖、存活、侵袭及转移密切相关^[5-6]。研究表明 IGF-1R 的表