

- croB Agents Chemother, 2010, 54(5):2078-2084.
- [5] Ben RJ, Yang MC, Hsueh JC, et al. Molecular characterisation of multiple drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in southern Taiwan[J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 38(5):403-408.
- [6] Potron A, Munoz-Price LS, Nordmann P, et al. Genetic features of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* from Haiti[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(12):5946-5948.
- [7] Jan Walther-Rasmussen, Niels Høiby. OXA-type carbapenemases [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006, 57(3):373-383.
- [8] Amudhan SM, Sekar U, Arunagiri K, et al. OXA beta-lactamase-mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*[J]. Indian J Med Microbiol, 2011, 29(3):269-274.
- [9] Verma V, Testero SA, Amini K. Hydrolytic mechanism of OXA-58 enzyme, a carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase from *Acinetobacter baumannii*[J]. J Biol Chem, 2011, 286(43):37292-37303.
- [10] Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al. Characterization of a new metallo- $\beta$ -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(12):5046-5054.
- [11] Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study[J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10(9):597-602.
- [12] Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, et al. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(6):1255-1259.
- [13] Ghazawi A, Sonnevend A, Bonnin RA, et al. NDM-2 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in the United Arab Emirates[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(2):34-36.
- [14] Asadollahi K, Taherikalani M, Maleki A, et al. Diversity Of Aminoglycoside Modifying Enzyme Genes Among Multidrug Resistant *Acinetobacter Baumannii* Genotypes Isolated From Nosocomial Infections In Tehran Hospitals And Their Association With Class 1 Integrons[J]. Acta Microbiol Immunol Hung, 2011, 58(4):359-370.
- [15] Chiu CH, Lee HY, Tseng LY, et al. Mechanisms of resistance to ciprofloxacin, ampicillin/sulbactam and imipenem in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan [J]. Int J Antimicrob Agents, 2010, 35(4):382-386.
- [16] Hornsey M, Ellington MJ, Doumith M, et al. AdeABC-mediated efflux and tigecycline MICs for epidemic clones of *Acinetobacter baumannii*[J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65(8):1589-1593.
- [17] Nigro SJ, Hall RM. Antibiotic resistance islands in A320 (RUH134), the reference strain for *Acinetobacter baumannii* global clone 2[J]. J Antimicrob Chemother, 2012, 67(2):335-338.
- [18] Coyne S, Rosenfeld N, Lambert T, et al. Overexpression of resistance-nodulation-cell division pumps AdeFGH confers multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(10):4389-4393.
- [19] Quale J, Bratu S, Landman D, et al. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* endemic in New York City[J]. Clin Infect Dis, 2003, 37(2):214-220.
- [20] Mussi MA, Limansky AS, Relling V, et al. Horizontal gene transfer and assortative recombination within the *Acinetobacter baumannii* clinical population provide genetic diversity at the single *carO* gene, encoding a major outer membrane protein channel[J]. J Bacteriol, 2011, 193(18):4736-4748.
- [21] Liu YH, Kuo SC, Lee YT, et al. Amino acid substitutions of quinolone resistance determining regions in *GyrA* and *ParC* associated with quinolone resistance in *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter genomic species 13TU*[J]. Microbiol Immunol Infect, 2012, 45(2):108-112.
- [22] Rolain JM, Roch A, Castanier M, et al. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France[J]. J Infect Dis, 2011, 204(7):1146-1147.
- [23] Moffatt JH, Harper M, Adler B, et al. Insertion Sequence ISAba11 Is Involved in Colistin Resistance and Loss of Lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(6):3022-3024.
- [24] Arroyo LA, Herrera CM, Fernandez L, et al. The *pmrCAB* operon mediates polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and clinical isolates through phosphoethanolamine modification of lipid A[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(8):3743-3751.
- [25] 刘天祥, 薛晓东, 魏莲花, 等. 烧伤病房鲍氏不动杆菌质粒介导的 16S rRNA 甲基化酶基因及耐药性传递研究[J]. 中华烧伤杂志, 2009, 25(2):98-102.

(收稿日期:2012-12-01)

• 综 述 •

## 氯吡格雷抵抗机制的研究进展

王淑宏, 王燕慧 综述, 张 灏<sup>△</sup> 审校

(甘肃省第二人民医院重症医学科, 甘肃兰州 730000)

关键词: 血小板聚集抑制剂; 基因; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)07-0843-04

阿司匹林与氯吡格雷双联抗血小板治疗是急性冠脉综合征(ACS)和经皮冠状动脉介入治疗(PCI)的标准化治疗<sup>[1]</sup>, 氯

吡格雷是抗血小板药物,通过有效抑制血小板的活化和聚集,其与血小板表面 P2Y<sub>12</sub> 受体不可逆结合,从而阻断二磷酸腺苷诱导的血小板聚集。临床实验证实,抗血小板治疗可降低心血管事件的发生率。阿司匹林联合氯吡格雷是冠脉内支架置入术后的标准治疗。然而,尽管行双重抗血小板治疗,仍有患者发生心血管事件,最严重的是支架内血栓形成<sup>[2]</sup>,其部分原因为氯吡格雷抵抗。最近新发现氯吡格雷抵抗是 PCI 术中无血流的机制之一<sup>[3]</sup>,存在氯吡格雷抵抗的患者具有较高的心血管死亡、再梗死或严重缺血等事件发生率。因此,氯吡格雷抵抗受到人们的广泛关注。

氯吡格雷抵抗缺乏公认的定义。氯吡格雷低反应,氯吡格雷无应答,氯吡格雷无反应,氯吡格雷衰竭以及氯吡格雷反应变异可视为氯吡格雷抵抗的同义词,也有人称为经治疗的血小板高活性状态<sup>[4]</sup>,氯吡格雷抵抗有临床和实验室两层含义。临床定义指虽给予氯吡格雷标准化治疗但不能达到预期的药理学作用,仍有闭塞性心血管事件发生<sup>[5]</sup>。用流式细胞仪测舒血管物质刺激磷酸蛋白(VASP)指数大于 50% 称为氯吡格雷抵抗<sup>[6]</sup>。氯吡格雷抵抗发生率在 4%~44%<sup>[7]</sup>。

氯吡格雷抵抗的机制复杂,与许多因素有关,如胃肠吸收相关的药物血液浓度低、肥胖相关的血药物浓度低、患者无顺应性、肝脏细胞色素(CYP)3A4 活性或 CYP 基因多态性肝脏对氯吡格雷的代谢降低、CYP 3A4 和其他代谢产物竞争性结合 P2Y<sub>12</sub> 血小板表面受体密度降低、P2Y<sub>12</sub> 基因多态性降低对氯吡格雷的亲和力以及局部或全身其他血小板活化剂浓度增加等因素<sup>[8]</sup>。氯吡格雷治疗在负荷量或维持量条件下血小板抑制率为 30%~50%。最近研究表明吡格雷不能完全代谢为有活性代谢物产生是氯吡格雷变异的原因,而非与受体相关的原因<sup>[9]</sup>。本文就现有的证据对氯吡格雷抵抗机制进行文献综述。

## 1 遗传与变异

基因机制占氯吡格雷抵抗机制的 30%<sup>[10]</sup>。主要表现为血小板 P2Y<sub>12</sub> 受体基因的多态性、受体数量的增加或受体信号传导障碍<sup>[11]</sup>。个体之间对抗血小板药物反应的差异源于遗传或获得性因素,但遗传因素其决定性作用,引起氯吡格雷反应变异的基础是肝脏细胞色素 CYP3A 功能和基因变异。小样本的研究证实 CYP2C19 基因和 CYP3A4 基因也影响氯吡格雷的反应变异。研究者采用全外显子组分析从 PCI 患者中新发现 2 个氯吡格雷抵抗因子 ATP2B2 和 TIAM2<sup>[12]</sup>。PG Ib/IIIa 基因的多态性和 P2Y<sub>12</sub> 受体也影响血小板功能,但是否影响氯吡格雷反应尚无定论<sup>[9,13]</sup>。

**1.1 CYP3A4 基因的多态性** CYP3A4 作为氯吡格雷在体内活化的关键酶,其多态性可以影响氯吡格雷的代谢与活性。有文献报道个体的 CYP3A4 基因多态性对氯吡格雷反应性有影响,但其他些研究未发现 CYP3A4 基因多态性与氯吡格雷的抗血小板作用之间的相关性。

**1.2 P2Y<sub>12</sub> 基因的多态性** 有研究发现在健康志愿者 ADP 诱导的聚集率与 P2Y<sub>12</sub> 基因的单倍体相关。H2 单倍体携带者更易患动脉粥样硬化,对氯吡格雷反应差。但是研究者未发现给予负荷剂量氯吡格雷的冠心病患者与 P2Y<sub>12</sub> 基因多态性有相关性。Cuisset 等<sup>[14]</sup>研究发现在非 ST 段升高的急性冠状动脉综合征患者中 P2Y<sub>12</sub> 受体基因的 T744c 的多态性对氯吡格雷无影响。Kar 等<sup>[15]</sup>也发现氯吡格雷抵抗与 P2Y<sub>1</sub> 和

P2Y<sub>12</sub> 基因多态性无关。

**1.3 ABCB1 基因的多态性** ABCB1 是编码 P-糖蛋白外排功能的基因,它可以影响氯吡格雷在肠道的吸收。有研究者将氯吡格雷血药浓度与 ABCB1 基因型进行观察,发现携带 ABCB1 的 CT 和 CC 基因型患者的氯吡格雷的活性代谢产物血药浓度-时间曲线下面积高于携带 ABCB1 的 TT 基因型患者。

**1.4 CYP2C19 基因多态性** CYP2C19 同工酶在氯吡格雷代谢中发挥重要作用。Simon 等<sup>[11]</sup>对接受氯吡格雷治疗的急性心肌梗死患者进行观察研究发现,CYP2C19 基因众多的多态性位点中,至少携带任意 2 个 CYP2C19 位点突变的患者其心血管事件的发生率比非携带者高,接受 PCI 治疗的患者中携带任意 CYP2C19 位点突变的患者心血管事件的发生率为非携带者的 3.58 倍。Mega 等<sup>[8]</sup>研究发现,CYP2C19 等位基因功能受损者氯吡格雷的活性代谢产物明显下降,血小板的抑制作用减弱,心血管不良事件发生率上升。研究发现,携带 CYP2C19 \* 2 等位基因患者发生支架内血栓事件的风险是未携带者的 3 倍<sup>[16]</sup>。一项荟萃分析<sup>[17]</sup>收集 9 项有 CYP2C19 基因型资料的研究发现,携带一个及以上 CYP2C19 突变位点的患者发生心血管不良事件的概率显著大于非携带者。而携带突变的患者发生不良事件的概率更高,相对危险度为 2.81。

## 2 药物之间的相互作用与肝脏 P450 活性的改变

有关氯吡格雷与他汀类药物以及质子泵抑制剂相互作用的争议不曾间断<sup>[18]</sup>,氯吡格雷主要经过肝脏 CYP3A4 的代谢,活性与氯吡格雷抵抗有关<sup>[19]</sup>。利福平的药理学刺激肝脏细胞色素 CYP3A4,增强氯吡格雷抑制血小板的作用;红霉素与氯吡格雷竞争肝脏细胞色素 CYP3A4,红霉素减弱氯吡格雷的抗血小板效果。另外,吸烟摄入的烟碱作为 CYP1A2 活性的诱导剂与氯吡格雷抵抗有关<sup>[20]</sup>。然而,药理学研究发现,同时服用亲脂的他汀类药物如阿托伐他汀、辛伐他汀与氯吡格雷竞争 CYP3A4 受体削弱氯吡格雷的血小板抑制作用。尽管这样,他汀类和氯吡格雷药物之间的相互作用并未能最后证实,为了避免他汀类与氯吡格雷竞争 CYP3A4 受体,临床上倾向于应用氯吡格雷的同时应用不影响 CYP3A4 代谢的他汀类药物<sup>[21]</sup>。

普拉格雷是第三代噻吩并吡啶类药物,同样也需要经肝脏细胞色素转化为有活性的代谢物。在一个小样本量的研究中纳入自愿者进行研究,CYP3A4 抑制剂酮康唑的药代动力学和体外血小板抑制的效果,观察氯吡格雷和普拉格雷的效果。同时服用酮康唑并不影响普拉格雷的活性代谢物的产生或普拉格雷诱导的血小板聚集。然而氯吡格雷负荷量和维持量时活性代谢产物减少而影响其诱导的抑制血小板聚集作用。同样,在另外一项研究中,与氯吡格雷相比较,普拉格雷能良好地产生活性代谢产物并抑制血小板聚集,普拉格雷无反应发生率也较氯吡格雷低<sup>[22]</sup>。

而且,已经证明普拉格雷和氯吡格雷的药物半抑制浓度大致相似,普拉格雷和氯吡格雷的活性代谢产物抑制体外 ADP 诱导的血小板聚集不足的原因是具有活性的代谢产物产生不足<sup>[23]</sup>。

## 3 氯吡格雷吸收障碍

最近药物代谢动力学研究测定不同剂量的氯吡格雷的游离药物和活性代谢物水平提示药物吸收的个体差异是导致氯吡格雷反应变异的一个重要因素<sup>[24]</sup>。

小肠流出物运载 P-糖蛋白限制氯吡格雷的吸收。P-糖蛋

白基因相关的差异也是氯吡格雷反应变异的部分原因。一系列的证据表明氯吡格雷反应的变异和无反应是一个药物活性代谢产物产生不足的药代动力学问题。后者受小肠吸收 P-糖蛋白的影响以及细胞色素 P450 功能和基因变异的影响。

#### 4 高胰岛素血症或胰岛素抵抗

高胰岛素血症或胰岛素抵抗明显抑制血小板的聚集和活化,胰岛素抵抗与氯吡格雷无反应或低反应相关。胰岛素抵抗且肥胖者氯吡格雷的反应性更差。尽管糖尿病患者支架术时予以氯吡格雷 600 mg 的负荷量但血小板聚集和活化仍然活跃<sup>[25]</sup>。

#### 5 基础血小板的反应性

氯吡格雷对血小板的反应性取决于血小板的基础反应水平,血小板基础反应性高的患者在 PCI 后抗血小板治疗获得的效果较差,尤其在最初 24 h 内为著。有研究提示早先已经存在的血小板功能的变异导致氯吡格雷无反应。原来就已存在的血小板对氯吡格雷反应的差异是氯吡格雷抵抗的原因,而且这种差异不能因口服氯吡格雷而增加<sup>[26]</sup>。

#### 6 疾病危重程度

急性冠脉综合征早期和 PCI 后血小板处于激活状态,这个特殊阶段对氯吡格雷的反应较差,心绞痛的危险程度和血小板抑制程度之间存在密切的内在联系。

#### 7 结语与展望

氯吡格雷抵抗的机制尚不明确,可能与患者的依从性、基础血小板的反应性、疾病危重程度药物剂量及生物利用度、药物相互作用和基因多态性等有关,药物代谢酶的基因多态性是近年来研究的热点之一。上述影响因素需要在未来的研究中给予全面考虑。来评估判断患者使用该药物治疗的有效性 & 临床医生实施基因导向性个体化给药。

#### 参考文献

[1] 张灏,米登海. 抗血小板治疗[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:231-289.

[2] Vlachojannis GJ, Dimitropoulos G, Alexopoulos D. Clopidogrel resistance: current aspects and future directions[J]. *Hellenic J Cardiol*, 2011, 52(3):236-245.

[3] Bozbeyoglu E, Satilmis S, Aksu H, et al. Impact of clopidogrel resistance on ST-segment resolution and no-reflow in acute myocardial infarction with ST-elevation patients treated with a primary percutaneous coronary intervention[J]. *Coron Artery Dis*, 2012, 23(8):523-527.

[4] Alexander SP, Mathie A, Peters JA. Guide to receptors and channels (GRAC), 4th edition[J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 158 Suppl 1: S1-254.

[5] Angiolillo DJ. Variability in responsiveness to oral antiplatelet therapy [J]. *Am J Cardiol*, 2009, 103(3 Suppl):27A-34A.

[6] Bonello L, Camoin-Jau L, Arques S, et al. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(14):1404-1411.

[7] Dupont AG, Gabriel DA, Cohen MG, et al. Antiplatelet therapies and the role of antiplatelet resistance in acute coronary syndrome

[J]. *Thromb Res*, 2009, 124(1):6-13.

[8] Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(4):354-362.

[9] Gurbel PA, Tantry US. Clopidogrel resistance? [J]. *Thromb Res*, 2007, 120(3):311-321.

[10] Pena A, Collet JP, Hulot JS, et al. Can we override clopidogrel resistance? [J]. *Circulation*, 2009, 119(21):2854-2857.

[11] Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(4):363-375.

[12] Price MJ, Berger PB, Teirstein PS, et al. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial [J]. *JAMA*, 2011, 305(11):1097-1105.

[13] Collet JP, Hulot JS, Pena A, et al. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study [J]. *Lancet*, 2009, 373(9660):309-317.

[14] Cuisset T, Frere C, Quilici J, et al. Role of the T744C polymorphism of the P2Y12 gene on platelet response to a 600-mg loading dose of clopidogrel in 597 patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome [J]. *Thromb Res*, 2007, 120(6):893-899.

[15] Kar R, Meena A, Yadav BK, et al. Clopidogrel resistance in North Indian patients of coronary artery disease and lack of its association with platelet ADP receptors P2Y1 and P2Y12 gene polymorphisms [J]. *Platelets*, 2012, 21(1):304-305.

[16] Hochholzer W, Trenk D, Fromm MF, et al. Impact of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and of major demographic characteristics on residual platelet function after loading and maintenance treatment with clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(22):2427-2434.

[17] Mega JL, Simon T, Collet JP, et al. Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis [J]. *JAMA*, 2010, 304(16):1821-1830.

[18] 王燕慧, 张灏. 他汀类药物与氯吡格雷相互作用争议的现状 [J]. *国际心血管病杂志*, 2011, 38(2):104-107.

[19] Lee JM, Park S, Shin DJ, et al. Relation of genetic polymorphisms in the cytochrome P450 gene with clopidogrel resistance after drug-eluting stent implantation in Koreans [J]. *Am J Cardiol*, 2009, 104(1):46-51.

[20] Bliden KP, Dichiara J, Lawal L, et al. The association of cigarette smoking with enhanced platelet inhibition by clopidogrel [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52(7):531-533.

[21] Neubauer H, Mügge A. Thienopyridines and statins: assessing a potential drug-drug interaction [J]. *Curr Pharm Des*, 2006, 12(10):1271-1280.

[22] Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, et al. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease [J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(10):1166-1173.

[23] Sugidachi A, Ogawa T, Kurihara A, et al. The greater in vivo anti-

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<sup>1</sup>综述, 殷 和<sup>2</sup>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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2-3]</sup>。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%<sup>[4]</sup>。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<sup>[5]</sup>。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<sup>[6]</sup>。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<sup>[7]</sup>。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。