



动态

埃博拉暴发期间塞拉利昂的移动实验室: 实践与启示

陈泽良, 常国辉, 张文义, 陈勇, 王雪松, 杨瑞馥, 刘超*

军事医学科学院疾病预防控制中心, 北京 100071

* 联系人, E-mail: liuchao9588@sina.com

收稿日期: 2015-05-27; 接受日期: 2015-07-02; 网络版发表日期: 2015-08-11

传染病防治国家科技重大专项(批准号: 2013ZX10004-203, 2013ZX10004805-006)资助项目

埃博拉病毒病(ebolavirus disease, EVD, 简称埃博拉)是一种由埃博拉病毒感染引起的急性、严重致死性疾病. EVD 最早是在 1976 年发现的, 当时同时在苏丹共和国的恩扎拉和刚果共和国的扬布库(Yambuku)两个地方暴发. 扬布库是埃博拉河附近的村庄, 埃博拉由此而得名^[1]. 自首次出现以后, EVD 在非洲已经多次暴发. 本次暴发(2013~2015 年)的 EVD 发生在西非国家, 是有史以来最大最复杂的一次, 比以往所有暴发的发病人数和死亡人数的总和还多. 暴发已传播到多个国家, 最早出现在几内亚, 然后传播到利比里亚和塞拉利昂^[2]. 在这些被殃及的国家中, 几内亚、利比里亚和塞拉利昂最为严重. 这些国家的卫生系统脆弱、缺乏人力资源和基础设施, 并且刚从长期的冲突和不稳定中恢复过来, 使疫情的控制难度更大. 在疫情暴发以后, 很多国家和组织在 EVD 的控制方面提供了有力的帮助. EVD 通过直接接触病人或污染物被感染. 控制好暴发需要依赖一系列干预措施, 包括病例管理、病例追踪、实验室支持、安全葬礼和社会活动等.

因为 EVD 传染性强、死亡率高, 早期诊断是病人隔离、治疗和预防传播的关键. EVD 的确诊依赖于实验室诊断^[3]. 由于卫生系统和基础设施差, 西非国家不具备实验室诊断能力, 所有实验室诊断均依赖

其他国家的移动实验室. 本团队从塞拉利昂卫生部网站、世界卫生组织(world health organization, WHO)和其他组织的网站, 以及实验室交流过程中收集相关资料, 总结实验室的运作与实践, 为将来传染病现场诊断提供经验启示.

EVD 实验室诊断包括非特异诊断和特异诊断. 非特异诊断包括血小板降低, 白细胞数开始降低随后升高, 血凝异常^[4]. EVD 的确诊依赖于特异的实验室诊断, 确诊 EVD 的方法包括分离病毒、检测病毒核酸或蛋白、检测针对病毒的抗体等. 培养分离病毒、PCR 检测病毒 RNA 和酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测蛋白的方法是直接检测病毒. 检测针对病毒的抗体是一种间接反映病毒感染的方法. 尽管每一种方法都能够给出确诊感染的结果, 但是在不同感染时期, 需要选择合适的方法(网络版附表 1). 对于症状出现后几天内的患者, 可以从全血或血清中检测病毒的抗原和核酸. IgM 抗体在出现症状后 2 天能够检测到, IgG 抗体在出现症状后 6~18 天才能够检测到. 对于死亡患者, 采集不到血样本, 可以采集试子, 通过核酸检测和病毒分离进行确认.

自从 EVD 暴发以后, 很多国家和组织帮助塞拉利昂控制疫情. 在 2014 年 3 月以后, 共有 7 个国家或

引用格式: 陈泽良, 常国辉, 张文义, 等. 埃博拉暴发期间塞拉利昂的移动实验室: 实践与启示. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 804-806

英文版见: Chen Z L, Chang G H, Zhang W Y, et al. Mobile laboratory in Sierra Leone during outbreak of Ebola: practices and implications. Sci China Life Sci, 2015, 58, in press, doi: 10.1007/s11427-015-4912-6

组织在塞拉利昂组建了 14 家实验室(网络版附表 2). 在这些实验室中, 位于凯内马政府医院的拉沙诊断实验室是首个开展 EVD 诊断的实验室. 但是该实验室在 8 月 7 日因为实验人员感染而关闭. 加拿大实验室在 2014 年 7 月 2 日开始检测, 他们的实验室位于凯拉洪, 是 EVD 最早从几内亚传入塞拉利昂的地方. 英国最早于 10 月 28 日在 Kerry Town 建立实验室, 然后分别于 12 月 6 日和 10 日在 Port Loko 和 Makeni 启动实验室. 中国移动实验室在 9 月 28 日正式开始实验室检测. 欧洲联盟在 2014 年 12 月启动了 3 个实验室, 这些实验室是从利比里亚和几内亚转移过来的, 因为在那里的疫情接近尾声. 尽管 EVD 实验室诊断有多种方法可选, 但是应用最为广泛的仍然是实时荧光定量 PCR. WHO 也公布了 PCR 和实时荧光 PCR 方法及其操作程序, 包括引物、探针和反应条件等, 用于特异检测 2014 年暴发的埃博拉病毒毒株.

在这些移动实验室中, 来自美国、中国、南非和英国的是最主要的几个实验室. 采样队采集样本后送到各实验室. 对于样本接收和随后的检测, 各个实验室也采取了不同的程序(网络版附表 3). 对于中国和英国的 Port Loko 实验室, 样本接收后保存起来, 每天检测一批或多批. 而美国 Bo 城实验室和南非 Lakka 实验室, 样本接收后就进行样本处理和检测. 4 个实验室有不同的检测装备和程序. 有两种灭活方法, 即热灭活和化学灭活. 除了中国 Lakka 实验室, 其他实验室都采用了化学灭活. 核酸提取方法各实验室也不同. 南非 Lakka 实验室仅采用手工提取, 而 Bo 实验室仅采用自动提取, 其他 2 个实验室同时采用手工和自动提取. 4 个实验室均采用定量 PCR 检测病毒核酸. 对于检测靶标的选择, Jui 和 Bo 实验室采用双靶标检测, 其中任意一个靶标检测阳性即判断为 EVD 阳性. 每一次样本检测的时间为 4~6 h. 检测

人员的配置为 4~12 人, 每批次的检测能力为 28~200.

中国移动实验室位于首都弗里敦, 从 2014 年 9 月 28 日开始检测. 因为这是中国专业人员首次面对生物安全四级病原, 生物安全被放在了非常重要的位置. 早期阶段检测量限定为 24 份, 随着技术人员对技术和操作的熟练, 检测能力逐步上升. 为了提高检测的质量和效率, 采取了一系列措施进行改进(表 1). 为诊断 EVD, 开发了特异检测扎伊尔型埃博拉病毒的 RT-PCR 方法, 国家应急批准了 3 个诊断试剂. 这些试剂盒的获批, 为实验室提供了有质量保证的诊断试剂. 除了诊断试剂, 还采取了系列其他措施来提高质量和效率. 这些措施涉及样本接收、前处理、核酸提取、扩增和病例定义标准等. 为了提高信息核对的效率, 样本及信息拍照后传出 P3 实验舱, 由舱外的人员进行进一步核对. 引入自动提取仪来提高提取效率. 基于这些优化, 检测能力增加到了每天 200 份. 正是由于这些优化, 中国移动实验室以 100% 准确性顺利通过了 WHO 组织的外部质量考核, 是参加考核的实验室中表现最好的实验室之一.

因为埃博拉病毒是一种生物安全四级病原, 生物安全对于工作人员来说是最重要的. 在塞拉利昂期间, 本团队参观了美国的 Bo、英国的 Port Loko 和南非的 Lakka 实验室. 这些实验室采取了不同的生物安全措施, 如网络版附表 4 所示, 这些差别包括个人防护装备、实验室防护级别、样本灭活和诊断的通量. 埃博拉病毒是一种需要在生物安全四级实验室条件下操作的病原. 但是, 在野外条件下, 很难完全满足这些条件. 南非和英国实验室采用负压手套箱操作, 而中国采用生物安全三级移动实验室. 令人惊奇的是, 美国 CDC 的实验室不使用任何生物安全设备, 唯一的防护措施是手套和面屏. 这些实验室都采用自动提取仪. 美国实验室有两种提取仪, 一种是每次

表 1 中国移动实验室提高检测质量和效率的措施

影响质量和效率的因素	改进措施	改进效果
质量		
严格操作程序	严格训练与练习	所有人员严格操作, 确保质量
扩增	双靶标、复孔检测、实验室对照	降低假阳性和假阴性的可能性
结果判读	结合原始数据、扩增曲线和复孔结果	获得确切的检测结果
效率		
样本数量不稳定	协调送样和接样	增加了样本量、相对稳定
样本信息核对	拍照传出 P3 后核对	核对时间降低了 75%
热灭活的容量	更换更大容量灭活装置	每批灭活通量提高 3 倍
核酸手工提取	更换为自动提取仪提取	批提取量提高 4 倍, 同时提取时间缩短 60%

提取 15 个样品的小型提取仪, 一种是每次提取 96 个样品的提取仪. 中国实验室采取 A 级防护, 这种防护步骤复杂且器材昂贵. 由于采取了相对复杂的程序, 中国实验室每天检测 1~2 批样本.

分析与总结移动实验室的实践经验能为将来的工作提供很多启示. 西非暴发的这次 EVD 疫情是近年来最严重的公共卫生事件. 中国作为一个成长中的大国, 在国际上发挥越来越重要的作用. 自 EVD 暴发后, 中国参与了抗击灾难的国际行动. 这对于中国卫生专业人员来说是一个很难得的机会. EVD 防控任务对于中国卫生人员来说意味着很多个第一次: 第一次在海外执行任务; 第一次处理生物安全四级的病原; 第一次将传染病防控延伸到海外. 在这次应对 EVD 之前, 本团队没有海外防控疾病的经验, 必须面对很多新的挑战, 如实验室是否足够安全, 如何与其他国家的实验室合作与竞争, 如何与当地卫生部门协作等.

幸运的是, 本团队成功在塞拉利昂首都弗里敦建立了移动实验室. 通过系统的优化与提高检测程序, 显著提高了检测的质量和效率. 检测能力稳步提高, 与其他国家相比相当甚至更高. 本团队完成了约

全部样本 20% 的任务量. 以用时最短并达到 100% 准确的成绩通过了外部质量考核. 在这次考核中, 6 个实验室中的 2 个未能以 100% 准确的方式通过考核, 这也反映了本移动实验室的质量和效率.

尽管本团队在参加抗击 EVD 疫情中表现出色, 但也面临很多挑战, 在国际竞争中, 仍有很长的路要走. EVD 早在 1976 年就已经发现了, 大约 40 年过去, 我国在该病的方面没有显著的科技进步. 然而, 美国在该病上投入了很多, 不仅包括基础科研, 还包括预防和控制该病的暴发.

EVD 诊断主要依赖 RT-PCR 方法, 包括样本灭活、核酸提取和扩增. 一个完整的流程需要 4~6 h, 而这对于 EVD 这种高传染性、高死亡率和进展迅速的疾病来说, 是一个很长的时间. 因此, 对于现场快速诊断方法有急切的需求. 但是, 到目前还没有针对 EVD 的快速诊断方法.

总之, 移动实验室在 EVD 病例确诊和疫情的控制中发挥了重要作用. 在移动实验室运行实践中, 本团队积累了大量野外实验室诊断的经验, 其他实验室的一些好的做法对于将来的工作很有价值.

参考文献

- 1 Frieden T R, Damon I, Bell B P, et al. Ebola 2014—new challenges, new global response and responsibility. *New Engl J Med*, 2014, 371: 1177–1180
- 2 Schieffelin J S, Shaffer J G, Goba A, et al. Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *New Engl J Med*, 2014, 371: 2092–2100
- 3 Martin P, Laupland K B, Frost E H, et al. Laboratory diagnosis of Ebola virus disease. *Intensive Care Med*, 2015, 41: 895–898
- 4 Chertow D S, Kleine C, Edwards J K, et al. Ebola virus disease in West Africa—clinical manifestations and management. *New Engl J Med*, 2014, 371: 2054–2057