

传染性非典型肺炎的病原学鉴定及其意义

王福生

2002年11月份在我国广东省最先发现临床上类似肺炎的病例。2003年1月份,我国专家考虑到此病与我国法定的34种传染病不同,确定此为“非典型肺炎”(atypical pneumonias)。由于该病具有起病急、传播快、人群普遍易感和病死率较高等特点,特别是该病很快在我国香港以及世界上20多个国家和地区流行,加上当时病因尚未完全明确,所以引起全球民众、各国政府和科研人员的高度关注。到3月12日,世界卫生组织(WHO)就非典型肺炎向全球发布了卫生警报,并将此病命名为“严重急性呼吸道综合征”(severe acute respiratory syndrome, SARS)^[1-3]。近2个多月以来,由WHO负责牵头,组织全世界13个实验室的科研和医务人员合作攻关,通过应用经典的病毒分离和培养、血清学分析和现代分子遗传学技术,分离并鉴定出SARS的主要病原体为一种新型的冠状病毒,后者既是SARS发病的原因,也是疾病进展的前提^[4-7]。现就SARS流行的最主要的特点和病原学研究进展等相关问题简介如下。

一、SARS 流行病学特点

新近流行的SARS的主要特点^[3-5]:①潜伏期较短,多为4~7天,因而起病急、病程进展较快。②不同民族的人群普遍易感,儿童和成年人均有发病,发病率比较高,一般以老年人发病较重,预后较差,病死率较高。值得重视的是SARS开始流行时,有很多患者家属和医务人员被感染,这主要因SARS为新型传染病,与防护意识和措施不到位有关。③该病流行的地区分布范围广,表现出散发或集中流行等形式。④本次SARS流行主要在冬春季开始持续存在。⑤流行病学资料提示SARS病毒通过飞沫或直接、间接接触方式传播。当然也不排除在与患者密切接触的情况下通过空气传播,特别是在呼吸道中发现病毒的存在支持上述结论。根据我院对康复出院的31例SARS患者(包括医护人员)的统计,结

果显示患者年龄分布多为青壮年:20~40岁约占79%、40~50岁占10.5%、50~75岁占10%;其中男性占38%、女性62%。感染途径和方式:与患者密切接触而被感染15例(48%),在救治患者时对危重患者实施呼吸道插管而被感染的医护人员11例(35.5%),间接接触3例(10%),感染途径不清楚2例(6%)。患者多以群体聚集分布:家庭成员7例、医护人员20例、散在感染(到过SARS流行的区域)4例。值得重视的是在危重患者的抢救过程中,患者肺中的气体直接经过呼吸道插管呼出,病毒含量非常高,而医护人员与之面对面的近距离接触,即使采取了严密的防护措施,仍然有可能被SARS病毒感染。例如北京市4月24日公布确诊SARS患者774例,其中医护人员143例,占18.47%。此外,研究中还发现SARS患者粪便中可检出冠状病毒RNA。如果粪便中新检出的病原体是存活的病毒,那么就可能存在呼吸道之外的其他传播方式。因为已经发现一些动物的冠状病毒可经过“粪-口途径”传播,SARS病毒是否通过“粪-口方式”传播需要进一步研究。

二、病原学鉴定

美国CDC和我国香港研究人员进行的大量分离和鉴定等工作以后,基本确定下列微生物不是引起SARS的病原体,已经被排除的病毒和细菌包括流感病毒(甲型、乙型)、副流感病毒(1、2、3型)、呼吸道合胞病毒、腺病毒、肺炎支原体、衣原体、军团菌属、斑点热、立克次体、斑疹伤寒立克次体、副粘液病毒、耶尔森菌、*Coxiella burnetii*、人类肺炎后病毒、*Mastadenoviridae*、疱疹病毒、微小病毒、汉坦病毒和沙粒病毒等。虽然研究人员在部分SARS患者体内也分离到了衣原体和人超级肺炎病毒,由于目前还缺乏必须的对照组数据或未被大部分实验室的结果所证实,所以专家们认为它们的存在可能是SARS病程后期的继发二次感染所致,该问题值得深入研究^[3,4,6]。

特别指出的是Drosten等^[5]和Peiris等^[7]在病原体鉴定方面提供强有力的证据。其一,他们利用

RT-PCR 技术在 100% SARS 病例的唾液、咽鼻吸出物或粪便中分别检出了冠状病毒。应用即时荧光定量 RT-PCR 方法在患者感染第 9 天的唾液中检测到大量的冠状病毒 ($> 10^8$ 拷贝/ml), 在血浆中病毒的量非常少。值得重视的是该患者感染后第 25 天的粪便中仍然能检出病毒。而在阴性对照组中, 40 例患其他类型呼吸系统疾病的对照组病例呼吸道分泌物中不含有这种新型冠状病毒, 200 例供血者血清中也不含有针对新型冠状病毒的抗体。其二, 他们应用随机引物从分离病毒感染的细胞(以无病毒感染的细胞为对照)中扩增出独特的 646 bp 核苷酸片段, 经过序列分析显示与牛冠状病毒和小鼠冠状病毒 RNA 有 57% 的同源性, 系统进化树分析显示被鉴定新型冠状病毒与以前的 II 类冠状病毒距离最近, 属于新型的冠状病毒。

电镜观察清晰地显示 SARS 病毒既可分布于细胞内的粗面内质网或空泡中, 也常见以集落方式分布于细胞外。在体外培养 Vero E6 细胞中, 可见多种形态的、膜色裹的冠状病毒, 直径大小在 80 ~ 140 nm 之间, 病毒颗粒的外周有 20 ~ 40 nm 长的表面突起。在尸检的肺组织中, 冠状病毒大小在 55 ~ 90 nm 之间。体外培养的病毒可以导致局灶的贴壁细胞发生病变而脱落, 然后引起所有细胞病变。尸检病例的肺组织能观察到一系列不同程度的进行性病理改变。总之, 从获得的生化学、遗传基因学和临床病理等研究资料显示, 此与以前鉴定的人类和动物冠状病毒不同, 为此美国 CDC 和我国香港科学家们于 3 月中旬最先宣布 SARS 病原体可能是这种新型冠状病毒。这一发现很快被世界上其他实验室的结果所证实。其中值得高兴的是我国军事医学科学院的研究人员几乎在同时也相继从病原体分离、血清学诊断、基因学分析和动物实验模型的建立等四方面证实是新型冠状病毒感染引起 SARS。在 4 月 16 日, WHO 正式认可并宣布新型冠状病毒为 SARS 的病原体。

4 月上旬, 国内外均报道了引起 SARS 的冠状病毒基因序列, 该病毒含有完整的 5' 末端序列、编码序列和 3' 末端序列, 全长 RNA 基因组长度为 29 727 核苷酸, 基因编码区的组成结构与其他冠状病毒类似, 包括多个开放阅读框架(ORFs), 分别编码病毒的多聚合酶蛋白(polymerase 1a, 1b)、针刺蛋白(spike protein)、小膜蛋白(small membrane protein)、膜蛋白(membrane protein)和核衣壳蛋白(nucleocapsid

protein)等。不同实验室的基因测序结果显示 SARS 病毒的基因序列基本一致, 这不仅说明世界各地 SARS 病原体流行病学的一致性, 而且还提示此病毒基因是相当稳定的, 后者对于防治疫苗的研制具有重要意义。

三、病原体发现的意义和今后的研究任务

在过去的 2 个月内, 有关 SARS 病原学、临床治疗学、流行病学等方面取得了前所未有的巨大成果。特别是新型冠状病毒的发现不仅为下一步研究 SARS 提供了重要的基础, 而且也指明了方向。值得高兴的是我国政府已经做出决定, 将 SARS 纳入国家法定传染病的目录。可以预见前述科学上的突破和我国政府以及卫生部门采取的重大决策, 将有力地推动特异性快速诊断试剂、抗病毒药物和预防性疫苗的研制, 同时还将促进 SARS 冠状病毒感染人体(细胞)的过程和致病机理的研究, 从而指导临床医生对 SARS 进行有效的、特异性的治疗和预防^[6, 7]。

当前亟待解决的首要问题之一是对临床病例进行 SARS 病原体的诊断。主要方法包括定性 RT-PCR 基因学和血清学诊断两个方面, 只要其中一项阳性或两者同时阳性, 结合临床症状即可准确诊断。目前国内外有许多实验室正在建立并完善 RT-PCR 和血清学诊断方法。预计不久的将来, 相关的诊断试剂盒就可以推广应用。此外在未来的 SARS 病原学诊断中, 目前应用于研究领域中的即时定量 RT-PCR 也可能成为临床常规的诊断手段。就定性和定量 RT-PCR 基因学诊断而言, 笔者认为下列问题直接影响到 SARS 病原体的检测结果: 患者处在 SARS 潜伏期和发病期其体内病毒血症维持几天? 患者通过呼吸道、粪便和分泌物等途径向外释放的病毒能存活多长时间? 在体液、分泌物、粪便中何者病毒含量最高? 此外就血清学诊断而言, 患者感染以后第几天出现抗体? 多高的滴度就可以明确诊断等一系列问题需要进一步阐明。

笔者认为 SARS 病毒的感染过程和发病机制也是下一步研究的重点问题。例如 SARS 病毒如何感染人体? 人体内哪些细胞是病毒攻击的主要靶细胞(如肺泡细胞、淋巴细胞等)? 病毒通过什么机制进入细胞、通过何种方式复制、释放? 在病毒感染的过程中, 如何提高机体的免疫功能才能有效的阻止病毒复制及其引起的一系列病理变化? 在临床病程进展过程中, 患者体内病毒载量、血清中和抗体的产生

以及动态变化有何规律?冠状病毒在体内通过何种机制引起肺脏、淋巴组织发生严重的病理变化,为何导致病人高烧不退、淋巴细胞显著减少等也需要结合临床进行研究。此外,新型冠状病毒的流行病学方面还需要阐明病毒确切的传播途径。例如,在病区(房)空气中病毒能存活多长时间?对何种消毒剂敏感?人体的感染剂量和发病之间有何相应的关系?在恢复期,患者是否持续释放病毒,持续时间又有多长?如何对确诊病例和疑似病例进行合理的隔离(几天最合适?)和对人群(尤其是临床一线医护人员)进行有效的预防等问题也急需进一步研究。

参 考 文 献

1 Lee N, Hui D, Wu A, et al. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003, published at www.nejm.org.

org. on April 7 2003.

- 2 Tsang KW, Ho PL, Ooi GC, et al. A cluster of cases of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003, published at www.nejm.org. on Mar 31 2003.
- 3 Poutanen SM, Low DE, Henry B, et al. Identification of severe acute respiratory syndrome in Canada. *N Engl J Med* 2003, published at www.nejm.org. on Mar 31 2003.
- 4 MMWR. Outbreak of severe acute respiratory syndrome - worldwide, 2003. *Morb Mortal Wkly Rep* 2003, 52:226-228.
- 5 Drosten C, Gunther S, Preiser W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003, published at www.nejm.org. on April 10 2003.
- 6 Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003, published at www.nejm.org. on April 10 2003.
- 7 Peiris JSM, Lai AT, Poon LLM, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003, 361:1319-1325.

(收稿日期 2003-04-21)

(本文编辑:张林东)

· 疾病控制 ·

邯郸市市售水产品中甲醛含量的调查分析

刘煜 任勇献 李文海 张庆河 谭佳 赵莲英

近年来,一些不法商贩用甲醛溶液浸泡海蜇、毛肚、鱿鱼、牛百叶等水发产品,其目的是使产品销售的时间更长、重量增加、感官更好,此行为不但损害了消费者的利益,且严重威胁着广大人民群众的健康。为了掌握本市水发产品的现状,于2002年11~12月组织食品卫生监督人员对市售水发产品进行了抽样调查。

1.对象与方法:调查对象主要是市内6家大型食品超市、4个集贸市场、10家火锅店。共采集样品90份。依据GB/T5009.34、61-1996进行检测,结果按GB2760-1996《食品添加剂使用卫生标准》进行评价。

2.结果 90份水发产品试样中检出含甲醛40份,检出率为44.4%。食品超市中水发产品中甲醛检出率为16.7%(5/30),远低于集贸市场中水发产品中甲醛检出率66.7%(20/30)和火锅店中水发产品中甲醛检出率50.0%(15/30),差异有显著性意义($P < 0.05$)。

水发产品中海蜇、海参、鱿鱼、牛百叶、毛肚甲醛检出率较高,均高于40%,鱼皮及墨鱼中检出率为20%,腐竹及海菇中无甲醛(表1)。

3.讨论:甲醛是一种挥发性有机化合物,其35%~40%的水溶液为福尔马林,人经口服致死量为10~20ml。中毒症状轻者有咽喉部不适及恶心呕吐等消化道症状,重者可有

体温升高和白细胞增加及肝肾损害。甲醛已是我国明令禁止使用于食品的添加剂。本次调查表明,大型食品超市购进水产品,一般渠道正规、索证齐全,购进后的产品不用甲醛浸泡,质量有保证。集贸市场内的商贩为了保证水产品能够长期存放、色泽鲜亮,大多用甲醛浸泡,浸泡的水产品大多为海蜇、海参、鱿鱼、毛肚、牛百叶等品种,其他品种较少浸泡。火锅店的水产品为图便宜,多从集贸市场购进。建议广大消费者从正规渠道购买,购买时增强卫生意识,希望国家能够尽快普及现场快速检测甲醛的试剂和方法,以保证广大消费者健康。

表1 邯郸市90份水发产品中甲醛含量的检测结果

品名	样品份数	检出份数	检出率(%)
海蜇	20	10	50.0
鱿鱼	15	10	66.7
海参	15	10	66.7
牛百叶	10	4	40.0
毛肚	10	4	40.0
鱼皮	5	1	20.0
墨鱼	5	1	20.0
腐竹	5	0	0.0
海菇	5	0	0.0
合计	90	40	44.4

(收稿日期 2002-12-12)

(本文编辑:张林东)

作者单位 056001 河北省邯郸市卫生防疫站(刘煜、任勇献、李文海、张庆河、谭佳),邯郸医学高等专科学校(赵莲英)