

动物健康：给全球提供传染病诊断技术

世界各地都在使用 IAEA 塞伯斯多夫实验室开发的诊断药盒

Peter F. Wright

家畜家禽对人类的良好生存贡献了哪些东西呢？也许人们首先想到的是食物，即肉、禽和奶制品。家畜还提供毛皮之类的其他原料。在某些地区，畜力在耕作和运输方面仍起着主要的和不可缺少的作用。

然而，许多因素可以给家畜群体的稳定性和健康带来不利影响。恶劣环境和营养不良严重影响家畜的生产率，在发展中国家里尤其如此。体弱的家畜最容易得病。

传染病的威胁是个全球性的问题。为此，粮食和农业组织(FAO)、国际兽疫局(OIE)及世界卫生组织(WHO)联合汇编和出版一种有关其成员国内疫情的年鉴。这本《动物健康年鉴》(Animal Health Yearbook)列有 140 多种具有程度不等的社会经济、公众健康和(或)动物卫生后果的传染病。它覆盖了见于牛、羊、山羊、马、猪、家禽、兔、鱼、软体动物、甲壳动物和蜜蜂等动物的主要疾病。

传染病

传染病是由微生物引起的。在兽医学上占有重要地位的疾病多半是由病毒、细菌及蠕虫引起的。少数疾病是由支原体、立克次氏体、原虫及其他微生物引起的，这类疾病虽不常见，但仍很重要。

任何特定传染病可能造成的影响取决于很多因素。显然，能引起成年畜和(或)幼畜大批死亡的疾病是十分严重的病害。某

Wright 是国际原子能机构(IAEA)塞伯斯多夫实验室家畜生产股股长。

些疾病能导致牲畜不育或流产，从而严重影响牲畜的自然繁殖。从所生产的食物、原料或所提供的畜力的质与量的角度看，其他一些疾病或许能造成生产率的严重下降。当传染病原可以从动物传给人时，动物疾病也能威胁人的健康。确定给定疾病的影响时，也许要综合考虑上述诸因素。

传染病可以通过各种途径传播。某些微生物大量存在于受感染动物的身体分泌物和粪便中，它们可以通过群居或性接触传播。有些微生物在遇到易感染动物之前可以在气流或水流中长距离迁移。另有一些微生物可以在妊娠期间从母体传给后代。还有一些微生物可以通过虫咬转移。有些微生物还会先感染野生动物之类的其他宿主，再转移给家畜，即野生动物起储存宿主的作用。从传播途径和储存宿主角度看，有些病是很难控制其范围和加以消灭的。

确诊

许多传染病的临床症状相似，不作实验室化验就很难确诊。任何传染病的确诊都需要对受感染组织或体液中的病原体进行直接的检验和鉴别。

用于分离、培养和鉴别微生物的经典实验室技术，属劳动密集型技术，费用较高，并需要大量的专业人才和设备。虽然这些技术对微生物定性和分型是有用的，但不宜在任何实验室中作为常规的和大规模的诊断方法使用。

近期在生物技术(例如核酸探针技术)方面的新进展，无疑会使未来的鉴别工作

又快又省,但目前这些技术仍被认为是实验性技术。

血清学诊断

从免疫学角度看,传染病原是由许多大的有机分子组成的,对动物来说它们是外来的或“非自身”的。针对这些有机分子产生免疫响应的一种方式,是产生与任何给定微生物所特有的大量抗原相对应的抗体。这批抗体是保护性免疫的第一道防线。

抗体具有实际结合特定微生物特有抗原的能力。因为抗体只是在遇到外来抗原后才产生,所以特定抗体的出现是接触到某种微生物(即使未达到被感染程度)的征兆。检测血液或其他体液中的特定抗体,就成了血清学诊断的基础。

血清学技术用于传染病的推定性诊断,已有半个多世纪。已开发出的许多血清学检验方法,有的简单,有的很复杂,大体上可分为两类。经典的血清学检验方法的基础,是作为抗体与特定抗原相结合的一种后果而发生的与抗体有关的现象。这些现象包括:可溶性抗原沉淀,细菌或红细胞凝集,红细胞溶解,以及病毒传染性被中和。在这些经典技术中,有许多今天仍用于诊断,但正在逐渐地被第二代分析方法即所谓的原始结合分析法所替代。

确切地说,原始结合分析法不是什么新事物。事实上它们已存在了 30 多年。抗体在分子水平上与抗原的结合,是不容易探测到的。不过,如果检验系统的一种成分是作了“记号”的(或者说是用能产生信号或产物的分子给它加了标记的),则抗原—抗体的结合便成为可探知和可测定的了。头一批使用的标记物是能用化学方法结合到提纯了的抗体或抗原上的放射性核素与荧光染料。如目前有些实验室仍在使用的放射免疫测定法与荧光免疫测定法。另一方面,酶免疫分析法现已得到广泛使用。这是因为酶标记的试剂生性比较稳定,而且不会引起卫生或废物处理问题。只要挑选

好酶降解后能产生有色产物的底物,检验中发生的抗原—抗体反应就可以用肉眼或光度测定方法测定。酶免疫分析法通常称为 ELISA 检验法。ELISA 是酶联免疫吸附分析法的英文名称的字头缩写,是 20 多年前首次采用这项技术时创造的。

酶免疫分析法

血清学诊断并非总象人们想象的那样能给出肯定的结果。其原因有三:一是不同微生物的某些抗原相当类似,足以在分子水平上产生能在任何血清学检验中发生交叉反应而引起假阳性反应的抗体;二是某些类型的抗体比其他抗体更容易引起假阳性反应;三是针对某些疾病的疫苗的普遍使用,也使血清学诊断变得更加复杂,因为疫苗抗原也会感生出抗体,后者与由感染产生的抗体是不易区别的。

世界上的大多数大型兽医研究实验室都在积极开发与改进 ELISA 诊断技术用的试剂。ELISA 也还有改进的余地,经典的血清学技术则不然。生物技术的进步已经并将继续对 ELISA 技术产生巨大影响。高度专一的单克隆抗体与高度限定的重组抗原的使用,已使许多 ELISA 技术的诊断效能得到改善。

动物健康计划

血清学技术是世界各地的动物健康计划的支柱。在血清流行病学调查中,这种技术常被用来判断家畜群体中是否存在特定的传染病和(或)判断其流行程度。它们还被用来监视疾病防治计划,此类计划也许涉及受感染家畜的检验和屠宰。接种疫苗计划也利用血清学技术监视,以确定有多少家畜已经接种疫苗,或者确定它们的反应是否正常。血清学技术还被用于防止疾病通过已感染家畜在国内或国家间的流动传播。

由于血清学信息对动物健康计划来说极其重要,所以重要的是使检验结果在诊

合作开发 ELISA 技术的实验室

下述 9 个国家的 15 个实验室正在与 IAEA 塞伯斯多夫农业实验室一起合作开发 ELISA 技术, 括号中列出的是各实验室参加研究的疾病:

- **联合王国**——皮尔布赖特动物健康研究所(牛瘟、反刍动物小菌落病害, 蓝舌病及口蹄疫); 爱丁堡热带兽医学研究中心(锥虫病); 韦布里奇中央兽医学实验室(布鲁氏杆菌病及传染性牛鼻气管炎);

- **法国**——诺西利国家农学研究所(布鲁氏杆菌病); 梅松斯-阿尔福特热带兽医学研究所(牛瘟、反刍动物小菌落病害及传染性牛胸膜肺炎);

- **加拿大**——尼平动物疾病研究所(布鲁氏杆菌病, 蓝舌病及奥杰斯基病);

- **澳大利亚**——贝纳拉地区兽医学实验室(布鲁氏杆菌病及出血性败血症); 印多鲁皮利地区朝吉特实验室(巴倍虫病); 杰隆澳大利亚动物健康实验室(蓝舌病及新城疫);

- **丹麦**——哥本哈根国家兽医学研究所(地方性牛白血病);

- **巴西**——里约热内卢泛美口蹄疫研究中心(口蹄疫);

- **美国**——伊萨卡地区纽约州立兽医学院(传染性牛鼻气管炎); 衣阿华州艾姆斯国家兽医服务实验室(布鲁氏杆菌病及蓝舌病);

- **肯尼亚**——内罗毕国际动物疾病研究实验室(锥虫病);

- **瑞典**——乌普萨拉国家兽医学研究中心(奥杰斯基病及地方性牛白血病)。

断学上尽可能准确。为了使检验可靠, 生物试剂应当是稳定的, 检验技术应当易于实施。为了能够大面积地推广应用, 这种检验应当又快又省。出于这些原因, ELISA 技术已经成为研究与开发的头号重点。ELISA 技术十分适用于发达国家与发展中国家作实验室诊断用。

塞伯斯多夫实验室的研究与支助

在 FAO/IAEA 核技术应用于粮食与农业联合处的计划中, 传染病诊断是有关动物健康的主要活动之一。IAEA 塞伯斯多夫

实验室农业实验室的家畜生产股, 则通过开发与传授专门开发的诊断药盒给该项计划提供支助。

对于将血清学诊断看作研究特定传染病的一种不可缺少手段的实验室, 农业实验室给它们提供诊断传染病用的 ELISA 药盒。农业实验室在有关动物健康与生产率的其他方面还有一些活动, 如分发用于测量生殖激素(孕酮)的放射免疫分析(RIA)药盒。这种激素被用于研究与监视牛、绵羊、山羊、水牛和骆驼的生殖周期, 以便提高配种成功率。仅在 1991 年, 就向非洲、亚洲和拉丁美洲的约 60 个对口实验室提供了 300 多个 RIA 药盒(大约可进行 125 000 次分析测定)。

在过去 6 年中, 重点放在牛的传染病上。在不久的将来, 预计还将为某些家禽和猪的传染病开发 ELISA 药盒。

IAEA 的家畜生产股并不进行开发 ELISA 用诊断试剂之类的开创性研究工作。确切地说, 它只是利用已有的 ELISA 试剂和技术制成适合发展中国家对口实验室使用的药盒。为了做到这一点, 家畜生产股充分依靠与世界各地的大型兽医研究实验室的合作。目前, 有 15 个实验室积极参与 ELISA 药盒的开发和试剂的供应。(见方框。)

药盒开发的关键组成部分是标准化和质量控制。这两件事对于使诊断结果在实验室内部与各实验室之间保持一致是至关重要的。为此, 要编写详细的操作规程, 具体描述设备要求、试剂的制备和贮存、分析的操作步骤、质量控制活动、数据验收标准、结果的解释以及故障的排除等。

所有试用性质的 ELISA 药盒, 在准备向对口实验室分发前, 必须经诊断试用确认合格, 其做法是利用试制的 ELISA 药盒及目前“最标准的”血清学技术同时检验指定的几组样品, 然后比较两者的结果。为了使药盒性能评价公正而严格, 确认工作必须在有经验实验室的合作下完成。

在 ELISA 药盒完成标准化和得到确认后, 就着手药盒的生产并分发给对口实验



拉丁美洲、非洲和亚太地区一些国家的约 75 个实验室的动物健康研究人员,正在使用设在奥地利塞伯斯多夫的 IAEA 实验室开发的诊断药盒。



秘鲁典型的“产奶”家畜。

室。传授药盒技术时,必须在药盒和仪器仪表的使用以及质量控制和检验数据的解释等方面培训接受方的实验室工作人员。家畜生产股在这方面的主要职能是从技术上帮助 FAO/IAEA 联合处组织这种培训。

各个对口实验室还常常需要技术方面的援后服务,以解决在当地遇到的影响药盒性能的问题。这类问题也许涉及设备故障、试剂变质或水质差等。水质也许是最重要的一个问题,因为所有的血清学技术在试剂制备和分析操作时都需要使用含水缓冲剂。家畜生产股制定了排除故障的办法,以帮助对口的科学家独立地解决与当地有关的问题。在 IAEA 塞伯斯多夫实验室仪器仪表股的合作下,它还提供设备维修服务。

建立外部质量控制制度,是药盒方面最新的一项支助活动。除例行活动外,还定期检验外部的对照样品,但这些样品是在对口实验室中“暗中”(即事先不知道样品的反应力)接受检验的。采用这个办法能够保证对分析方法及药盒性能的检验是客观的。在检验这类样品方面获得成功,能建立起对对口方的信任,并为国际的数据验收奠定基础。

目前已开发出能用于以下几种主要牛病的 ELISA 抗体药盒:牛瘟、布鲁氏杆菌

病、巴倍虫病、牛白血病及传染性牛鼻气管炎。并开发出用于口蹄疫、锥虫病及出血性败血病的 ELISA 抗原药盒。后面这些药盒用于检测抗原,而不是检测抗体,可用于确诊。最近完成了用于蓝舌病及传染性牛胸膜肺炎的 ELISA 抗体药盒。在不久的将来,将着手开发用于奥杰斯基病(猪)及新城疫(家禽)的药盒。

1992年,向世界各地约75个对口实验室分发了100多个药盒(约60万份检验剂量)。(见第37页附图。)

国际任务

由于传染病是个全球性问题,IAEA 已就用于世界各地防治、根除和监测计划的 ELISA 技术和试剂的国际标准化问题,与 FAO、WHO 及 OIE 建立了合作关系。

1992年,IAEA 塞伯斯多夫实验室的家畜生产股已被正式指定为 FAO/IAEA 的动物疾病诊断用 ELISA 和分子技术研究中心,并被指定为 OIE 的酶免疫和分子诊断方法合作研究中心。

这些指定给我们带来的任务是搞好国际标准化。这种标准化无论对工业化国家还是对发展中国家都是有益的。 □