

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.04.042

急性弛缓性麻痹监测系统实验室检测方法研究进展*

彭靖尧¹, 赵 华¹, 黄 为¹, 谢武娟¹, 凌 华¹, 张 敏¹综述, 王 亚^{2△}审校

1. 重庆市疾病预防控制中心, 重庆 400042; 2. 重庆市江北区疾病预防控制中心, 重庆 400020

关键词: 急性弛缓性麻痹; 实验室检测; 病毒分离; 分子生物学方法

中图分类号: R512.4

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)04-0566-05

急性弛缓性麻痹(AFP)是一大类复杂综合征的统一名称。广义的理解下, AFP 是对所有能引起肌张力减弱、肌力下降、腱反射消失疾病的统称, 按其病因又可以分为传染性病例和非传染性病例, 并且绝大多数的病例是传染性的^[1]。全球 AFP 研究领域中, 对 AFP 的定义是一种狭义的定义, 就是世界卫生组织在倡导消灭脊髓灰质炎建立 AFP 监测系统中对 AFP 的定义^[2]。尽管监测系统定义不能涵盖所有 AFP, 但它几乎包含了所有的传染性 AFP 病例, 尤其是由脊髓灰质炎病毒(PV)导致的 AFP。在这个定义下进行的 AFP 防控工作, 已经取得了可喜的成就。从 1988 年至今, 全世界范围内, 由 PV 引起的 AFP 已经下降了 99%^[3]。PV 引起的 AFP 在我国曾经广泛流行, 是儿童致残和死亡的重要因素^[4]。我国的 AFP 防控工作成效显著, 在 2000 年就进入了无脊髓灰质炎状态^[5]。这不仅得益于脊髓灰质炎减毒活疫苗(OPV)的广泛使用, 更与 AFP 监测系统的高效工作密不可分。AFP 监测系统中, 病原的实验室检测工作至关重要, 监测系统定义下的 AFP 的病原体主要是包括 PV 在内的肠道病毒, 本文针对 AFP 病原体的实验室检测方法进行综述。

1 AFP 的病原体

全球范围内的 AFP 监测研究显示, 能引起 AFP 的病原体主要是肠道病毒(EV), 包括 PV 和其他非脊髓灰质炎肠道病毒(NPEV)^[6-7]。肠道病毒属小 RNA 科, 是一个大家族, 其基因组是单股正链 RNA, 含有 VP1、VP2、VP3、VP4 四个结构蛋白编码区域, 分别编码 4 种结构蛋白, VP1、VP2、VP3 位于其表面, 决定着血清型, VP4 区位于其内部, 其核苷酸序列相对保守。在早些年研究当中, 研究人员习惯将肠道病毒划分为埃可病毒、柯萨奇病毒、PV 以及新型肠道病毒。一直以来, PV 在 AFP 研究领域中扮演重要的角色, 在对 PV 的研究中, 世界卫生组织定义了脊髓灰质炎野病毒(WPV)^[8]、疫苗高变异脊髓灰质炎病毒(VHMPV)、疫苗衍生脊髓灰质炎病毒(VDPV)^[9]。PV 有 3 个型别, I 型、II 型、III 型, 其血清型分型和基

因分型结果高度一致^[10]。随着研究的不断深入, 近年来对肠道病毒的分类有了新的标准。基于肠道病毒 VP1 区, 肠道病毒划分为 A、B、C、D 4 组^[11], 按照肠道病毒 VP1 区序列特点, 肠道病毒的基因型多达 100 多种^[12]。越来越多新型别的 NPEV 被证实能导致 AFP, 其中最多的是肠道病毒 71 型(EV71), 其次是肠道病毒 D68 型(EVD68)^[13]。近些年的研究发现, PV 的减毒疫苗株可以与 C 组肠道病毒发生重组, PV 衣壳蛋白被根除后, 其基因组剩余部分可以在其他 C 组肠道病毒中无限期存活, 这就为产生新的能引起 AFP 的肠道病毒提供了有力进化条件^[14]。

2 AFP 病原体实验室检测方法

自 1988 年世界卫生组织提出消灭脊髓灰质炎计划, 倡导在全球范围内根除脊髓灰质炎以来^[15], 全球 AFP 监测实验室针对 AFP 病原体(PV 和 NPEV)开展了大量的监测工作, 各种关于 AFP 病原体的检测方法大致可分为病毒分离、血清学鉴定方法、聚合酶链反应(PCR)、核苷酸序列测定及分析。

2.1 PV 和 NPEV 的病毒分离 病毒分离是病毒性疾病诊断的金标准, 在 AFP 监测工作中, 病毒分离也是病原学监测工作的基础, 病毒分离得到的高浓度和高纯度的毒株可以应用于其他相关的更深入的研究。我国于 1991 年开始开展 AFP 监测工作, 在开展 AFP 监测工作之初, AFP 监测实验室使用世界卫生组织推荐的人喉表皮癌细胞(Hep-2)和人横纹肌肉瘤细胞(RD)对 AFP 病例的粪便标本进行病毒分离。包括 PV 在内的肠道病毒能在这两种细胞上产生典型的细胞病变(CPE), 通过倒置显微镜直接观察细胞形态就能完成肠道病毒的分离工作。使用 RD 和 Hep-2 细胞在进行病毒分离时, 这两种细胞均能分离 PV 和 NPEV, 但缺乏对 PV 的特异性, 1998 年, 世界卫生组织推荐了一种新的转人 PV 受体的小鼠细胞(L20B)来进行 PV 的分离, 同时仍采用 RD 细胞进行肠道病毒的分离^[16]。同一时期的相关研究均表明, 使用 L20B 和 RD 细胞进行 PV 和肠道病毒分离时, L20B 细胞对 PV 有着极强的特异性和敏感性, 对 PV 有着

* 基金项目: 重庆市科学技术委员会和重庆市卫生健康委员会联合医学科研项目(2018MSXM077)。

△ 通信作者, E-mail: wyaya2007@sina.com。

更准确的分离效果,但是可能会影响 NPEV 的分离率^[17]。在进行病毒分离的实验中,除了防止实验操作过程中的污染,实验过程中的质量控制也尤为重要,细胞敏感性实验和支原体检测是 AFP 监测实验室病毒分离工作中常用的质量控制手段^[18-19]。在较长一段时间内,AFP 监测实验室进行病毒分离的实验中,接种后的 RD 和 L20B 细胞都是连续观察 7 d,传两代,使用 RD 细胞和 L20B 细胞进行病毒分离的实验室检测中,习惯于把 L20B 细胞分离阳性毒株叫作 PV,L20B 细胞阴性而 RD 细胞阳性分离毒株叫作 NPEV。从 2013 年 1 月 1 日起,在世界卫生组织推荐

下,AFP 监测实验室开始实施新的病毒分离流程,新病毒分离流程不但缩短了病毒分离时间,还使用了交叉转种的方法(即 RD 细胞 CPE 阳性需转种 L20B 细胞,L20B 细胞 CPE 阳性需转种 RD 细胞),这种方法很大程度上提高了病毒分离物的纯度和浓度^[20]。新分离流程还更科学地为病毒分离物进行了定义,经新流程分离后最终 L20B 细胞 CPE 阳性后且转种 RD 细胞 CPE 阳性称为 L20B 阳性分离物,是否属于 PV 需要进一步鉴定。经新流程最终只有 RD 细胞 CPE 阳性分离产物仍称作 NPEV。AFP 监测实验室中病毒分离流程变更情况对比详见表 1。

表 1 我国 AFP 监测系统病毒分离流程对比

流程名称	实施年份	使用细胞	传代数	每代观察天数(d)	是否交叉转种	对 PV 特异性	分离时限
流程一	1991—1997 年	RD Hep-2	2	10~14	否	不好	最长
流程二	1998—2013 年	RD L20B	2	7	否	好	长
流程三	2013 年至今	RD L20B	2	5	是	最好	最短

2.2 AFP 监测中的血清学方法 在 AFP 监测的实验室工作中,血清学方法主要被应用在早些年的研究中,并且早些年的 AFP 研究工作重心在 PV 上,对 NPEV 不太重视,较少有对 NPEV 的研究,因此 AFP 监测实验室的血清学方法主要针对 PV 设计。基于血清学方法,AFP 监测实验室常开展的实验有 PV 的血清型鉴定和定型实验、PV IgM 抗体测定、脊髓灰质炎疫苗效价测定、人群脊髓灰质炎抗体水平检测实验、交叉吸附血清 ELISA 实验。PV 的血清学鉴定和定型实验是使用 PV 的 3 种特异性型别的抗血清 I、II、III 按照组合对病毒进行中和实验,其组合方式有:(1) I、II、III 型组合,(2) I、II 型组合,(3) I、III 型组合,(4) II、III 型组合;然后根据中和实验结果反推待鉴定病毒分离物是否属于 PV 以及其型别。此方法操作烦琐,且需要建立在病毒分离培养的方法上,目前已被分子生物学鉴定方法替代。PV IgM 抗体测定是使用 ELISA 方法检测 AFP 病例血清及脑脊液中的特异性 IgM,此方法必须在明确患者近期没有接种疫苗的情况下才适用,并且脑脊液的采集相对麻烦,在 AFP 监测工作中,此实验较少开展。脊髓灰质炎疫苗效价测定实验的主要目的是为了检测和评价疫苗在运输和存储过程中,疫苗效价是否受到影响,该实验操作烦琐,同时需要建立在细胞培养方法的基础之上^[21]。人群脊髓灰质炎抗体水平检测实验不是 AFP 监测实验室的常规检测,此实验主要目的是评价免疫策略的有效性,以及了解人群的免疫水平,进而针对性地制订相关免疫策略^[22]。交叉吸附血清 ELISA 实验是荷兰科学家发明的用于鉴定 PV 的方法,该方法可区分野毒株和疫苗株^[23],但随着 PCR 方法的建立,该鉴定方法已经很少被使用。

血清学方法也可以用于 NPEV 的分型,其原理与 PV 的分型方法类似,都是依靠病毒分离得到较高浓度和纯度的毒株后,再使用相应的中和抗体进行分型。这种基于血清学分型的方法,可以将 NPEV 划分为 60 多个血清型,但血清型分型方法必须依赖于病毒的分离,而相关研究显示,这种鉴定方法实验工作量巨大,存在交叉反应且对某些变异毒株无法定型^[24]。因此,在 NPEV 的鉴定研究中,血清学方法逐渐被分子生物学方法替代。

2.3 AFP 监测中常用的分子生物学方法 随着分子生物学技术的迅速发展,分子生物学检测方法已经被广泛应用到各个领域。AFP 监测领域使用到分子生物学方法的实验有以下几种:聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)实验、实时荧光聚合酶链反应(rRT-PCR)鉴定实验、商品化荧光定量 PCR 试剂检测、病毒核苷酸序列的测定及分析,这些方法大多基于分子生物学的经典方法——PCR 上建立起来的。AFP 监测实验室中早期采用 PCR-RFLP 方法对 PV 进行鉴定,基于 PCR 和 RFLP 两种方法,其原理是先通过 PCR 对目的片段的扩增,然后使用限制性内切酶对目的片段进行酶切,然后通过电泳观察限制性酶的图谱来分析序列间的差异,进而达到分型鉴定的目的^[25]。PCR-RFLP 方法进行 PV 的鉴定时,由于其引物特异性问题,能扩增 NPEV,需要先用中和实验对 PV 定型,而且此实验中要使用到较多限制性内切酶,操作步骤烦琐,已经被新的型内鉴定方法所代替;rRT-PCR 鉴定实验是近年来 AFP 监测实验室广泛开展的实验,此实验包括 PV 的型内鉴定((ITD)和 PV 衍生株(VDPV)筛选^[26-27]。AFP 监测系统中 rRT-PCR 鉴定实验所使用的试剂盒是由美国疾病预

防控制中心 (CDC) 研发的, 其中的型内鉴定 rRT-PCR 实验通过多对荧光探针标记的特异性引物, 除了能鉴定出 PV、WPV 和 NPEV 外, 还能快速鉴定 PV 的型别, 并初步判定出 PV 属于疫苗相似 (SL) 株或非疫苗相似 (NSL) 株, VDPV rRT-PCR 实验可以将 ITD 实验中判定的 PV-SL 核苷酸变异情况进行初步筛查, 快速鉴定其是否属于 VDPV。由美国 CDC 研发的 rRT-PCR 鉴定 PV 的方法, 操作方便、快捷, 特异性和敏感性高, 重复性好, 该方法通过了 AFP 实验室网络的评估, 是世界卫生组织推荐的方法。目前, 美国 CDC 针对全球 AFP 相关肠道病毒的新特征, 不断优化该方法中使用的引物和探针, 该方法试剂已升级到 5.1 版本; 近年来, 针对 PV 和 NPEV 的商品化 rRT-PCR 检测试剂盒越来越多。商品化的检测试剂操作简单, 可同时实现 PV 和 NPEV 的检测和分型, 但商品化的检测试剂缺乏可靠的评估和有效的质量控制手段, 不能用作 AFP 监测实验室的常规方法, 只能作为辅助的鉴定手段。

病毒核苷酸序列的测定及分析, 在现阶段病毒学研究中占有越来越重要的地位, 其方法学越来越成熟, 使用也越来越广泛。一直以来, AFP 监测实验室中选用肠道病毒 VP1 区作为目的基因进行相关研究, 包括肠道病毒的检测和鉴定分型等, 该方法由 OBERSTE 等人在 1999 年建立^[28]。基于 VP1 区的序列特点, AFP 研究领域定义了 VDPV (即 I 型和 III 型 PV, 其 VP1 编码区域与 Saibin 株比较, 变异率 $>1\%$ 且 $<15\%$ 。II 型 PV, VP1 编码区域与 Saibin 株比较, 变异率 $>0.6\%$ 且 $<15\%$), 在 AFP 监测工作中, 通过 VP1 区的序列分析, 可以确定 PV 是否属于 VDPV, 为 AFP 的防控工作提供科学依据。在 NPEV 的研究中, VP1 区的序列特点被广泛应用于 NPEV 基因型别的划分, 越来越多引起 AFP 的 NPEV 被确定型别^[1], VP1 区分型还有一个显著的特点就是与血清中和实验方法进行分型的结果具有较好的一致性, 因此 VP1 区分型方法可靠、准确, 是最常用的肠道病毒基因分型方法。虽然使用 VP1 区分型方案一直被视为肠道病毒分型的金标准, 但相关研究发现肠道病毒 VP1 区的变异程度最大, 针对 VP1 区很难设计通用引物, 因此, 肠道病毒研究领域开始使用相对保守的 VP4 区进行分型研究^[29]。肠道病毒 VP4 区核苷酸序列全长仅 207 bp, 相对于 VP1 区设计引物更容易, 实验操作更方便、快捷, 可以提高分型效率。在肠道病毒研究中, 研究人员发现肠道病毒基因组存在重组现象^[30-31], 因此, 使用单一片段对肠道病毒进行分型可能不准确, 要获得更准确的分型结果必须采用多片段分型方法相结合。随着测序方法的不断成熟, 在肠道病毒研究中, 研究人员为了确保分型的准确, 开展了越来越多的针对肠道病毒全基因组序列的研究^[32-33]。随着新一代基因测序技术的不断普及, 病毒的全基因

组研究已经变得更加简单、易行^[34]。

3 展 望

时至今日, 在世界卫生组织的极力倡导和全球 AFP 监测网络实验室的共同努力下, AFP 的防控工作已经取得了长足的进展, 尤其是对 PV 引起的 AFP 的防控。在针对 PV 的防控工作中, 全球范围有效控制了 WPV 传播, 近年报道 WPV 的国家仅有阿富汗、尼日利亚和巴基斯坦^[15]。目前, 全球越来越多的国家完成了 WPV 的封存工作, II 型 PV 的封存工作也正在全球范围内按照世界卫生组织全球行动计划 (GAP III) 的相关要求有序进行^[35]。尽管如此, AFP 仍然是一项全球范围内的公共健康问题^[36], 在全球消灭脊髓灰质炎的新阶段, 更及时、有效地发现和控制 WPV 以及 VDPV, 是世界卫生组织对全球 AFP 监测网络实验室的最新要求。与此同时, 引起 AFP 的新的病原体不断被发现、识别和研究。首先是 NPEV, NPEV 是除 PV 外, 导致 AFP 的重要病原体, 在脊髓灰质炎即将被消灭的现阶段扮演着重要角色。NPEV 是一个大家族, 型别繁多, 缺乏有效的疫苗对其进行防控, 并且广泛存在于自然环境中, 这使得 NPEV 的防控成为难题和挑战。此外, 近些年的一些研究还发现, 除肠道病毒外, 其他病毒也能引起 AFP^[37], 这也对 AFP 监测工作提出了更高要求。但是, 有理由相信, 随着针对 AFP 的检测方法多元化以及检测技术的不断提升, 在 AFP 的监测工作中, 不仅能将 PV 研究得更透彻、更深入, 也能将除 PV 以外的其他病原体进行深入的研究, 并将其有效地防控。

总之, 目前 AFP 的防控工作取得可喜成绩, AFP 监测实验室的检测工作功不可没。作为 AFP 监测实验室, 在肯定自己成绩的同时, 应该看到面临的问题和挑战, 不断提升实验室的检测技术能力, 更好地为疾病的防控提供病原学依据。

参考文献

- [1] ABBASIAN F, SABERBAGHI T, MOOSAPOUR A. Role of non-polioviruses in acute flaccid paralysis (AFP) [J]. J Gastroenterol Hepatol Res, 2012, 211(4): 44-48.
- [2] PELLEGRINELLI L, PRIMACHE V, FIORE L, et al. Surveillance of acute flaccid paralysis (AFP) in Lombardy, Northern Italy, from 1997 to 2011 in the context of the national AFP surveillance system [J]. Hum Vaccin Immunother, 2015, 11(1): 277-281.
- [3] COWGER T L, BURNS C C, SHARIF S, et al. The role of supplementary environmental surveillance to complement acute flaccid paralysis surveillance for wild poliovirus in Pakistan-2011-2013 [J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0180608.
- [4] YU W Z, WEN N, ZHANG Y, et al. Poliomyelitis Eradication in China: 1953-2012 [J]. J Infect Dis, 2014, 210 (Suppl 1): S268-S274.

- [5] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Certification of poliomyelitis eradication—Western Pacific Region, October 2000[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2001, 50(1):1-3.
- [6] BALUNI M, SINGH D, GHILDIYAL S, et al. Etiologic Involvement of Enterovirus and Human Bocavirus in Acute Flaccid Paralysis Cases in India[J]. Open Forum Infect Dis, 2017, 4(Suppl 1):S313-S318.
- [7] FERNANDEZ-GARCIA M D, KEBE O, FALL A D, et al. Identification and molecular characterization of non-polio enteroviruses from children with acute flaccid paralysis in West Africa, 2013-2014[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 3808-3812.
- [8] KALKOWSKA D A, DUINTJER TEBBENS R J, THOMPSON K M. The probability of undetected wild poliovirus circulation after apparent global interruption of transmission [J]. Am J Epidemiol, 2012, 175(9):936-949.
- [9] JORBA J, DIOP O M, IBER J, et al. Update on vaccine-derived polioviruses-worldwide, January 2016-June 2017 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2017, 66(43):1185-1191.
- [10] PREVISANI N, TANGERMANN R H, TALLIS G, et al. World Health Organization Guidelines for Containment of Poliovirus Following Type-Specific Polio Eradication-Worldwide, 2015[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2015, 64(33):913-917.
- [11] ANDRÉOLETTI L, RENOIS F, JACQUES J, et al. Human enteroviruses and respiratory infections [J]. Med Sci, 2009, 25(11):921-930.
- [12] YAMASHITA T, ITO M, TSUZUKI H, et al. Molecular identification of enteroviruses including two new types (EV-98 and EV-107) isolated from Japanese travellers from Asian countries[J]. J Gen Virol, 2010, 91(Pt 4): 1063-1066.
- [13] SURESH S, FORGIE S, ROBINSON J. Non polio Enterovirus detection with acute flaccid paralysis: A systematic review[J]. J Med Virol, 2017, 90(1):3-7.
- [14] BARTON D J, KEMPF B J, COOPER D. Poliovirus and group C enteroviruses: knowledge gaps relevant to eradication[J]. New Horiz Transl Med, 2015, 2(4/5): 132-136.
- [15] BAHL S, BHATNAGAR P, SUTTER R W, et al. Global polio eradication-way ahead[J]. Indian J Pediatr, 2018, 85(2):124-131.
- [16] WOOD D, HULL B. L20B cells simplify culture of polioviruses from clinical samples[J]. J Med Virol, 2015, 58(2):188-192.
- [17] 宋长江, 闫滨. RD、L20B 和 Hep-2 细胞对脊髓灰质炎病毒检出率的比较[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(3): 308-309.
- [18] 王东艳, 张勇, 安洪秋, 等. 中国脊髓灰质炎实验室网络 2007—2015 年细胞敏感性监测与评价[J]. 中国疫苗和免疫, 2016, 22(2):138-142.
- [19] 王东艳, 祝双利, 张勇, 等. 中国脊髓灰质炎实验室网络开展细胞系支原体检测及现状分析[J]. 中国疫苗和免疫, 2017, 23(1):8-12.
- [20] 陈玫, 崔志强, 郭玉, 等. 脊灰病毒分离和鉴定新检测流程的应用[J]. 医学动物防制, 2015, 31(3):269-272.
- [21] KANOJIA G, HAVE R T, BRUGMANS D, et al. The effect of formulation on spray dried Sabin inactivated polio vaccine[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2018, 129:21-29.
- [22] FARKAS Á, NÓRA M, SZOMOR K N, et al. Comparative study of antibody levels developed by vaccination against polio virus in population after vaccine type alteration[J]. Acta Microbiol Immunol Hung, 2015, 62(1):75-85.
- [23] REZAPKIN G, MARTIN J K. Analysis of antigenic profiles of inactivated poliovirus vaccine and vaccine-derived polioviruses by block-ELISA method [J]. Biologicals, 2005, 33(1):29-39.
- [24] ZHANG X, SUN C, XIAO X, et al. Phage Display-Derived Cross-Reactive Neutralizing Antibody against Enterovirus 71 and Coxsackievirus A16[J]. Jpn J Infect Dis, 2016, 69(1): 66-74.
- [25] FAROKHIPOR S, GHIASIAN S A, NAZERI H, et al. Characterizing the clinical isolates of dermatophytes in Hamadan city, Central west of Iran, using PCR-RLFP method[J]. J Mycol Med, 2018, 28(1):101-105.
- [26] BURNS C C, KILPATRICK D R, IBER J C, et al. Molecular properties of poliovirus isolates: nucleotide sequence analysis, typing by PCR and real-time RT-PCR[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1387:177-212.
- [27] 范丽霞, 王卫军, 巴卓玛, 等. 实时荧光定量 RT-PCR 在脊髓灰质炎病毒型内鉴定中的应用[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(12):50-52.
- [28] 张晓玲, 胡芸文, 周志统. 人肠道病毒分型方法和鉴定技术的研究进展[J]. 微生物与感染, 2013, 8(1):38-42.
- [29] HIDEYUKI K. Molecular classification of enteroviruses not identified by neutralization tests[J]. Emerg Infect Dis, 2002, 3(8):298-304.
- [30] JUNTILA N, LÉVÊQUE N, MAGNIUS L O, et al. Complete coding regions of the prototypes enterovirus B93 and C95: phylogenetic analyses of the P1 and P3 regions of EV-B and EV-C strains[J]. J Med Virol, 2015, 87(3):485-497.
- [31] MUSLIN C, JOFFRET M L, PELLETIER I, et al. Evolution and emergence of enteroviruses through intra-and inter-species recombination: plasticity and phenotypic impact of modular genetic exchanges in the 5' untranslated region[J]. PLoS Pathog, 2015, 11(11):e1005266.
- [32] GOU E, LI Q, LI X, et al. Analysis on the sequence of the whole genome of an isolated enterovirus 71 strain[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(11):20652-20657.
- [33] ZHANG H, SONG Z, YU H, et al. Genome-wide linear B-cell epitopes of enterovirus 71 in a hand, foot and mouth disease (HFMD) population[J]. J Clin Virol, 2018, 105: 41-48.

院基因检测集中化管理的可行性方案。

3.1 医院支持 国内大型医院,每个月标本外送量非常大,因此,借着既合理又合规地开展基因检测活动、规避医疗纠纷、进行规范化管理为契机,将其纳入精准医学管理委员会讨论议题,讨论包括遴选检测技术,签署权责协议,规范人体组织标本外送、患者数据管理应用等。

3.2 平台建设 将基因检测纳入精准医学中心管理,建立基因检测平台,具备以下功能:(1)负责管理全院的基因检测医疗活动;(2)遴选并编辑《基因检测目录表》;(3)签署权责协议,确定质量控制指标;(4)负责基因检测相关技术的指导;(5)协调并服务临床科室的检测需求。此外,还可对临床医生及相关人员开展基因遗传学继续教育,储备基因咨询师队伍,拥有专业技术人员可解决临床问题,例如靶向治疗、免疫治疗、病原微生物检测和遗传检测诊断^[12]等问题。

3.3 实践方案 前瞻性设计可行性实践方案,包括:院内调研、数据分析、舆论宣传、平台建设、规章制度、医疗流程、标本流程、政策支持、试运行等。

3.4 其他 加强基因检测行业法制法规建设,从源头规范基因检测技术公司的检测行为;加强政府有关部门的行业监管,确保行业持续健康发展;加强医院针对性制度建设,管理基因检测医疗活动,保障医生和患者的合法权益。

综上所述,作为基因检测的参与者,患者、医生、检测机构、研究者彼此之间缺乏高效联通的平台,存在信息鸿沟^[13],所以,基因检测医院内平台化管理是大势所趋。医院基因检测平台化管理的建立对提高医院内基因检测的标准化和临床规范化非常关键。平台化是整合基因检测上下游系统性工程的外在表现,是精准医学发展的重要前提^[14]。以医院为主体,规范基因检测乱象,保证检测质量,保护医生,综合控费,短期利益服从长远发展,实现患者利益最大化;最终,利于该区域内医院在精准医学新技术浪潮中取得领先地位。

参考文献

[1] 姜烈君,陆晓旭,黄华艺.下一代测序技术的临床应用规

(上接第 569 页)

[34] GOODWIN S, MCPHERSON J D, MCCOMBIE W R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies[J]. Nat Rev Genet, 2016, 17(6): 333-351.

[35] MINOR P D, LANE B, MIMMS S, et al. Scientific consultation on the safety and containment of new poliovirus strains for vaccine production, clinical/regulatory testing and research. Report of a meeting held at NIBSC, Potters Bar, Hertfordshire, UK, 6/7th July 2016[J]. Biologicals, 2017, 48: 92-100.

范化问题:参考美国医学遗传学与基因组学会行业标准[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2016, 8(4): 217-221.

[2] TANG P, CROXEN M A, HASAN M R, et al. Infection control in the New Age of genomic epidemiology[J]. Am J Infect Control, 2017, 45(2): 170-179.

[3] 董尔丹. 精准医学与中国实践:回顾与思考[J]. 中华心血管病杂志, 2017, 45(6): 458-464.

[4] PRASAD V. Perspective: the precision-oneology illusion[J]. Nature, 2016, 537(7619): 63-69.

[5] ANTMAN E M, LOSCALZO J. Precision medicine in cardiology[J]. Nat Rev Cardiol, 2016, 13(10): 591-602.

[6] 黄辉,沈亦平,顾卫红,等.临床基因检测报告规范与基因检测行业共识探讨[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(1): 1-8.

[7] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. Ca Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[8] 吴金明,蔡霞,罗红,等.医学检验创新型自主开放式实验教学模式的探索与实践[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(1): 139-140.

[9] 杨书香,刘群.基因检测技术的应用及国内行业发展现状[J]. 绿色科技, 2015(12): 281-283.

[10] PATERSON J, JAHANSHAH G, LI Y, et al. The contribution of genome mining strategies to the understanding of active principles of PGPR strains[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2017, 93(3): 233-249.

[11] 周元,蔡善荣,邓甬川.基因检测应用的社会伦理问题[J]. 中国医学伦理学, 2008, 21(2): 102-119.

[12] 朱彦辉,姚广裕,陈路嘉,等.循环肿瘤 DNA 检测及其在乳腺癌中的临床应用[J]. 肿瘤, 2018, 38(1): 73-77.

[13] 谭诗,李秋红.地中海贫血筛查的临床应用价值[J]. 检验医学, 2018, 33(8): 730-733.

[14] 詹启敏.中国精准医学发展的战略需求和重点任务[J/CD]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2015, 1(5): 1-3.

(收稿日期:2019-08-06 修回日期:2019-12-10)

[36] MACESIC N, HALL V, MAHONY A, et al. Acute Flaccid paralysis: the new, the old, and the preventable[J]. Open Forum Infect Dis, 2015, 3(1): ofv190.

[37] EL-DOKLA A M, HASAN R, ALI S T. Unilateral facio-brachial weakness: An unusual neuromuscular presentation Of West Nile Virus infection[J]. Muscle Nerve, 2018, 57(3): E110-E112.

(收稿日期:2019-08-20 修回日期:2019-12-02)