

巴布亚新几内亚需要增强实验室能力以更好地应对未来的霍乱暴发

Andrew Greenhill^a, Alexander Rosewell^{bc}, Monalisa Kas^a, Laurens Manning^d, Leomeldo Latorre^e, Peter Siba^a 和 Paul Horwood^a

通讯作者: Andrew Greenhill (e-mail: andrew.greenhill@monash.edu 或 andrew.greenhill@yahoo.com.au).

2009年7月, 巴布亚新几内亚首次发现霍乱, 系O1群霍乱弧菌埃尔托生物型小川血清型引起^[1]。截至2011年底, 巴布亚新几内亚整个低地地区共报告霍乱病例15 500例, 病死率为3.2%^[2]。此后疫情传播趋缓, 仅在西部省以及布干维尔自治区 (Autonomous Region of Bougainville, ARB) 有散发病例报告。准确、及时的实验室诊断是霍乱应对的关键要素, 然而在一些低收入同时霍乱负担又非常严重的国家, 实验室诊断服务往往非常有限。本文报告了巴布亚新几内亚首次暴发霍乱期间实验室诊断中遇到的问题, 以及影响实验室诊断相关的后勤因素。

莫尔斯比港市综合医院 (Port Moresby General Hospital, PMGH) 实验室是巴布亚新几内亚唯一一家常规开展细菌培养以辅助对病例进行诊断的实验室。当霍乱从疫情最严重的Morobe省的偏远农村地区蔓延至该省省会 (Lae) 时, Lae市的Morobe省立医院重新启动了细菌培养。由于经费有限、基础设施老旧, 该医院已多年未开展细菌培养。霍乱疫情还蔓延至其它6个地势低洼省份以及布干维尔自治区, 但这些省份和地区无法在短期内将霍乱诊断培养所需的设施准备就绪, 因此, 标本要通过飞机运往莫尔斯比港市综合医院实验室。国家卫生部门不推荐使用霍乱的快速诊断试验 (Rapid diagnostic tests, RDTs), 然而在该起霍乱暴发期间, 一些省的卫生机构仍在当地使用RDTs。

采集近期末使用抗生素的5岁以上急性水样腹泻病例的粪便标本拭子, 储存于Cary-Blair运送培养基, 再按照标准方法进行细菌培养^[3]。简言之, 先将标本接种于碱性蛋白胨水在37°C培养6–12小时进行增菌, 然后将增菌液接种于TCBS琼脂平板并在37°C培养24小时。此外, 也将标本直接接种于TCBS琼脂平板。通过生化鉴定 (API 20E, 法国Marcy-l'Étoile bioMerieux公司) 和血清学实验来确定细菌的生物分型和血清分型。莫尔斯比港市综合医院实验室对来自巴布亚新几内亚20个省份中的17个省份的共678份标本进行了检

测分析, 其中331份 (占49%) 标本呈阳性结果。没有得到Morobe省医院实验室标本检测结果数据, 该实验室的细菌培养也未能持续进行。

大家公认迅速、准确的霍乱病原学诊断是霍乱疫情监测中的关键步骤, 它对实施快速干预和预防措施, 努力降低疫情的传播和死亡率具有重大影响^[4]。然而, 回顾整个巴布亚新几内亚霍乱疫情发生过程, 在新发生霍乱的地区病例确认需要花费很长时间。一些疫情暴发地区较为偏远, 缺少通往莫尔斯比港市的道路, 附近的医院实验室也不能进行细菌培养, 延迟了病例的确诊时间。通常从暴发地区采集标本并将其运送至莫尔斯比港市综合医院需要花3–4天, 进行细菌培养检测需要至少2天, 这样一个新发地区从发现霍乱疑似病例至疫情确认至少需要一周的时间。临床上对疑似病例凭经验按照标准的补液原则进行治疗, 因此实验室确诊的延迟并未对治疗造成影响。然而, 实验室诊断的延迟可能延缓了暴发地区旨在减少霍乱传播的公共卫生措施的采取。

世界卫生组织 (WHO) 推荐在霍乱疫情暴发初期对首发的10–20例疑似病例通过细菌培养方法进行实验室确诊, 同时也推荐在暴发期间检测部分标本以监测抗生素敏感性, 在暴发后期检测20份粪便标本以确认暴发是否结束 (要求细菌培养结果均为阴性)^[5]。在巴布亚新几内亚, 当一个新的地区发生霍乱暴发时, 当地仅采集零星的标本进行细菌培养检测, 而且没有一起暴发是通过细菌培养来确认疫情是否结束的。由于巴布亚新几内亚的霍乱暴发产生的新需求使实验室工作负荷趋于极限, 因此无法承受上述任务。如果能及时确认暴发疫情结束, 省级政府就可以及时关闭霍乱治疗中心, 从而节省经费和资源。

尽管细菌培养是霍乱实验室确诊的主要方法, 但它也可能存在假阴性。孟加拉国近期的一项霍乱研究显示, 在135份粪便标本中, 通过细菌培养、快速诊

^a 巴布亚新几内亚戈罗卡巴布亚新几内亚医学研究协会

^b 巴布亚新几内亚莫尔斯比港世界卫生组织驻巴布亚新几内亚办事处

^c 澳大利亚悉尼新南威尔士大学公共卫生与社区医学学院

^d 澳大利亚佩恩西澳大利亚大学医学与药理学学院

^e 巴布亚新几内亚莫尔斯比港市综合医院病理学实验室细菌学分部

投稿日期: 2011年12月15日; 刊发日期: 2012年5月23日

doi: 10.5365/wpsar.2011.2.4.016

断试验、直接荧光抗体检测、多聚酶链反应、噬菌体裂解试验等方法综合检测，结果131份（97%）标本为霍乱弧菌阳性，而通过细菌培养仅86份（64%）标本为阳性^[4]。细菌培养假阴性可能是巴布亚新几内亚霍乱弧菌分离率小于50%的原因之一。此外，标本储存和运输对霍乱弧菌检出结果的影响也无法准确衡量。加强各地区中心的实验室能力建设，可以确保巴布亚新几内亚能更好地为未来的疾病流行做准备，同时也将有助于对其它具有高疾病负担、呈地方性流行的传染病进行诊断。

送至莫尔斯比港市综合医院标本的霍乱弧菌培养阳性率为49%，这与既往报道的培养阳性率相当^[4,6]。其余51%标本的急性水样腹泻病例根据霍乱暴发疫情的病例定义可以作出诊断，但这些病例没有确切的细菌培养结果支持。因为巴布亚新几内亚其他肠道感染疾病的负担很高，因此患其他腹泻性疾病的人可能会因为担心感染了霍乱而到医疗保健机构就诊^[7,8]。将来应该考虑应用细菌培养和分子生物学技术对不同地区标本进行全面的病原学检测研究，以更好地了解巴布亚新几内亚急性水样腹泻暴发的病原谱。

低收入国家非常需要改进的诊断方法来进行霍乱的诊断。在本次巴布亚新几内亚霍乱暴发期间，至少使用了两种快速诊断试剂，即韩国京畿道Standard Diagnostics公司的Cholera Ag O1试剂以及美国马里兰州哥伦比亚特区New Horizons Diagnostic公司的SMART II试剂，但这些快速诊断试剂的使用既不广泛也不系统。尽管普遍认为快速诊断试剂易于使用^[9,10]，但在本次霍乱暴发初期，因未接受过快速诊断试验培训，有基层的临床和实验室人员错误地将最初的20个快速诊断试验结果解释为阴性，而且没有采集细菌培养所需的粪便标本。虽然这样的解读并未影响当地及时、适当地启动快速临床暴发应对措施，但霍乱快速诊断试验结果的误判在一定程度上延误了实验室确诊，这也突显了在一个国家推广使用快速诊断试验之前应开展必要的培训工作。

尽管快速诊断试验对低收入国家很有用，但也不应忽视细菌培养的作用。细菌培养对许多细菌性传染病的诊断来说仍然是金标准。对临床标本进行菌株分离和保存可以获得重要的公共卫生数据，例如细菌的耐药监测数据。对于一个人口约700万、具有高传染病负担、缺少交通运输基础设施的国家而言，仅有一家能够进行细菌培养的实验室是不够的。莫尔斯比港市综合医院实验室的核心功能是常规诊断，应对这样的霍乱流行对该实验室能力来说也是捉襟见肘。针对暴发应对和持续监测的实验室工作可能更适合放在巴布亚新几内亚的中央公共卫生实验室。巴布亚新几内亚大的地区医院也应该配备细菌培养设施。

预计短期内巴布亚新几内亚的细菌培养能力难以有大幅度的提高，因此应考虑使用其他检测方法辅助进行实验室诊断。目前的一些快速诊断试验尚未得到广泛的认可，然而尽管这些方法存在一些不足，它们在霍乱实验室诊断中仍可以发挥一定的作用。快速诊断试验不能替代细菌培养，但可以作为细菌培养实验室诊断的有益补充^[3,11]。及时、准确的实验室诊断可以改善病例治疗效果、促进公共卫生应对、促进流行病学资料的获取，而巴布亚新几内亚在本次霍乱暴发应对中在这些方面做得还不是很理想。在国家层面加强规划和投入，可确保巴布亚新几内亚及西太平洋区域其他国家更好地应对未来的霍乱暴发。

利益冲突

无申报。

经费

无。

引用本文地址：

Greenhill A et al. Improved laboratory capacity is required to respond better to future cholera outbreaks in Papua New Guinea. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2012, 3(2):30–32. doi: 10.5365/wpsar.2011.2.4.016

参考文献：

1. Rosewell A et al. *Vibrio cholerae* O1 in 2 coastal villages, Papua New Guinea. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17:154–156. doi:10.3201/eid1701.100993 pmid:21192890
2. Horwood PF et al. Clonal origins of *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains, Papua New Guinea, 2009–2011. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17:2063–2065. doi:10.3201/eid1711.110782 pmid:22099099
3. *Laboratory Methods for the Diagnosis of Epidemic Dysentery and Cholera*. Atlanta, Centers for Disease Control and Prevention, 1999 (<http://www.cdc.gov/cholera/pdf/Laboratory-Methods-for-the-Diagnosis-of-Epidemic-Dysentery-and-Cholera.pdf>, accessed 18 October 2011).
4. Alam M et al. Diagnostic limitations to accurate diagnosis of cholera. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48:2391–2392. doi:10.1128/JCM.00616-10 pmid:20739485
5. *Cholera Outbreak - Assessing the Outbreak Response and Improving Preparedness*. Geneva, World Health Organization, 2004 (http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_CDS_CPE_ZFK_2004.4_eng.pdf, accessed 22 November 2011).
6. Alajo SO, Nakavuma J, Erume J. Cholera in endemic districts in Uganda during El Niño rains: 2002–2003. *African Health Sciences*, 2006, 6:93–97. pmid:16916299
7. Qadri F et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* diarrhea, Bangladesh, 2004. *Emerging Infectious Diseases*, 2005, 11:1104–1107. doi:10.3201/eid1107.041266 pmid:16022790

8. Vicente AC et al. Outbreaks of cholera-like diarrhoea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in the Brazilian Amazon Rainforest. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2005, 99:669–674. doi:10.1016/j.trstmh.2005.03.007 pmid:15975612
9. Kalluri P et al. Evaluation of three rapid diagnostic tests for cholera: does the skill level of the technician matter? *Tropical Medicine & International Health*, 2006, 11:49–55. doi:10.1111/j.1365-3156.2005.01539.x pmid:16398755
10. Mukherjee P et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic dipstick kit for diagnosis of cholera emphasizes its outbreak utility. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2010, 63:234–238. pmid:20657061
11. Global Taskforce on Cholera Control. *Prevention and Control of Cholera Outbreaks: WHO Policy and Recommendations*. Geneva, World Health Organization, 2012 (<http://www.who.int/cholera/technical/prevention/control/en/index1.html>, accessed 8 March 2012).