

STD

病原体基因诊断技术

主编 于文彬 祝道成



W 世界图书出版公司

STD 病原体基因诊断技术

主 审 丁振若
主 编 于文彬 祝道成
副主编 苏明权 穆士杰 陈必良
编 者 任力强 马越云 陈云春 李 萍
殷晓莉 王利彦 张立伟 王德堂
任雨笙 史宪杰 杨 静 马 艳

世界图书出版公司

西安·北京·广州·上海

(陕)新登字 014 号

STD 病原体基因诊断技术

于文彬 祝道成 主编

李 丹 责任编辑

空军工程大学出版发行

(西安市西木头市 34 号 邮编 710002)

空军工程学院印刷厂印刷

各地新华书店经销

开本:850×1168 毫米 1/32 印张:4.75 字数:110 千字

1998 年 8 月第 1 版 1998 年 8 月第 1 次印刷

印数:1-3000 册

ISBN 7-5062-3727-X/R·239

Wx 3727 定价:12.60 元

目 录

第一章	概述	(1)
一、	现代性传播疾病的特点	(1)
二、	性行为与临床感染	(4)
三、	性传播疾病发病原因	(9)
四、	性传播疾病基因诊断方法学评价	(11)
第二章	人类免疫缺陷病毒	(22)
一、	HIV 的分子生物学	(22)
(一)	HIV 基因组结构及蛋白	(22)
(二)	HIV 复制的调控	(24)
二、	分子生物学实验方法	(27)
(一)	引物的设计	(28)
(二)	核酸探针检测方法	(30)
(三)	PCR 检测 HIV	(32)
三、	临床意义	(38)
(一)	血清抗体阳性病人 HIV 序列的检测	(38)
(二)	血清抗体阴性病人的 HIV 序列的检测	(39)
(三)	新生儿 HIV 序列的检测	(40)
第三章	梅毒螺旋体	(42)
一、	苍白螺旋体分子生物学特性	(42)
二、	体液免疫反应	(43)

三、	分子生物学实验方法	(44)
(一)	引物设计与选择	(44)
(二)	操作方法	(45)
四、	基因诊断的临床评价	(47)
五、	应用 PCR 技术诊断梅毒	(49)
六、	临床意义	(53)
第四章	淋病奈瑟氏菌	(55)
一、	淋球菌基因探针	(55)
二、	基因探针检测淋球菌	(61)
(一)	淋球菌质粒探针的制备	(61)
(二)	膜的制备与杂交方法	(61)
三、	PCR 检测淋球菌	(62)
(一)	PCR 引物设计	(62)
(二)	质粒 DNA 的提取	(62)
(三)	PCR 反应	(64)
(四)	PCR 扩增产物分析	(64)
四、	临床意义	(64)
第五章	生殖道支原体	(66)
一、	分子生物学基础	(66)
二、	分子生物学检测方法	(70)
三、	临床意义	(73)
第六章	沙眼衣原体	(76)
一、	沙眼衣原体基因结构	(76)
(一)	外膜蛋白基因序列	(76)
(二)	质粒 DNA 序列	(77)
(三)	rRNA 基因序列	(79)

二、	操作方法	(80)
(一)	模板制备	(80)
(二)	PCR 反应扩增	(80)
(三)	产物检测	(80)
三、	临床意义	(81)
第七章	白色念珠菌	(83)
一、	基因探针检测念珠菌	(83)
(一)	菌细胞培养及全细胞 DNA 的提取	(83)
(二)	白色念珠菌肌动蛋白基因探针的构建	(86)
(三)	白色念珠菌 2.9kb 探针	(86)
(四)	临床上的应用评价	(87)
二、	PCR 快速诊断白色念珠菌	(88)
(一)	引物设计	(88)
(二)	标本处理	(89)
(三)	PCR 操作	(90)
(四)	PCR 产物检测	(91)
三、	特异性和敏感性	(91)
四、	应用效果评价	(93)
第八章	单纯疱疹病毒	(94)
一、	HSV 基因组结构特点	(94)
二、	HSV 基因转录与调节	(96)
三、	HSV 的糖蛋白	(99)
四、	PCR 检测单纯性疱疹病毒	(101)
(一)	引物设计与选择	(101)
(二)	操作方法	(101)
(三)	临床意义	(102)

第九章	乳头瘤病毒	(104)
一、	乳头瘤病毒的基因结构及功能	(104)
二、	人乳头瘤病毒与生殖器疣的发病关系	(108)
三、	PCR 检测人乳头瘤病毒	(110)
(一)	引物设计与选择	(110)
(二)	操作方法	(111)
(三)	临床意义	(112)
第十章	人类巨细胞病毒	(114)
一、	人类巨细胞病毒的分子生物学特征	(114)
二、	人类巨细胞病毒基因组构成	(115)
三、	PCR 检测方法	(116)
(一)	引物设计与选择	(116)
(二)	操作方法	(116)
四、	PCR 等方法检测人类巨细胞病毒的应用评价	(118)
(一)	HCMV 的 PCR 方法建立	(119)
(二)	HCMV 的 PCR 引物设计	(120)
(三)	套式 PCR 诊断	(120)
(四)	RT-PCR 诊断活动型 HCMV 感染	(122)
(五)	定量 PCR	(123)
(六)	自动封闭检测系统	(125)
(七)	病毒血症定量检测	(125)
(八)	抗原血症的定量检测	(126)
五、	临床意义	(128)
附录 1	常用贮存液的配制	(130)
附录 2	PCR 实验常用缓冲液	(134)

附录 3	电泳缓冲液	(137)
附录 4	载样缓冲液	(139)
附录 5	常用裂解液的配制	(141)

第一章 概述

现代性传播疾病 (STD) 的概念与以前性病的概念有明显的区别, 疾病的传播方式已由以往性交为主要传播方式的疾病扩展为全部性行为传播的疾病, 疾病由原来的四种扩展为当今的二十余种疾病。随着现代医学科学的发展在病原微生物学方面、发病机理方面、免疫学方面、组织病理学方面、超微结构方面、临床治疗方面都有较大的进展。比如梅毒的血清学诊断已从过去的非特异性反应发展为特异性的免疫学反应, 这不仅提高了梅毒的血清学诊断的敏感性, 也增加了特异性, 几种现代梅毒血清学特异性反应在二期梅毒阳性率为: 100%, 明显地提高了梅毒的确诊率。由于分子医学、分子生物学、分子微生物学等学科的进步, 使新的基因诊断方法不断涌现, 为现代性传播疾病病原体的快速诊断提供了有力的诊断手段。

一、现代性传播疾病的特点

1. 具有多种多样的病原体

性传播疾病的病原体有细菌、真菌、螺旋体、衣原体、支原体、病毒、寄生虫 7 大类, 在病原微生物的 8 大类中除了立克次氏体以外都可以引起性传播疾病, 因此做性传播疾病病原

体检查和分离，需要有全面的微生物学知识，防治措施也应有各自的特殊性。有的性传播病是由一种病原体引起的，如梅毒是由苍白螺旋体、淋病是由淋病双球菌引起的；也有的性病是由多种病原体引起的，如非淋菌性尿道炎的病原体有沙眼衣原体、解尿支原体、葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌、毛滴虫、白色念珠菌等很多种病原微生物。在治疗上应根据病原体的不同而采取不同的治疗措施。

2. 传播途径以性行为为主

各种传染病都有自己的传播途径，性传播疾病的传播途径主要是性行为，其中主要是性交传染，可以沿着性的关系传播，可以依据这种关系追踪传染源和再感染者。

3. 不受自然因素干扰

有些传染病的传播过程受自然因素的干扰，特别是那些以食物、水和空气为传染途径的疾病，常受到日光、温度、季节等自然因素的干扰。性传播疾病的传播过程是发生在性行为进行过程，完全是皮肤和粘膜在特定的腔内接触造成传播的，因此不受外界自然环境的干扰。同样也不能采取某些物理措施预防性传播疾病。

4. 具有隐蔽性

性病常与性乱行为有密切关系，婚外性行为违犯法律的某些条款，从道德观念上也常受到舆论的谴责，并常因此而引起家庭纠纷。病人常常隐瞒自己的性乱行为。常常讳疾忌医，忍疾耐苦，而失去有利的治疗时机，使疾病严重地在体内进展和扩散。也有的病人就医时使用假姓名、假地址或假工作单位。性病的这种隐蔽性给防治工作带来很多困难，因而不能实现复查和随访。

5. 传播速度快

性传播疾病中淋病和非淋菌性尿道炎 (NGU) 等疾病潜伏期很短, 感染后发病很快, 同病人有过性接触的人中患病率很高, 非淋菌性尿道炎常引起集团和家族成员集体患病, 是一些传播速度很快的疾病, 对这种情况必须对性传播疾病采取有力措施加以控制。

6. 流行范围广

从世界范围来看性传播疾病在所有的国家都有发生和流行经典性病的流行危害更大。性病的流行与国际交往的增加、旅游事业的发展、商业活动的人口流动有密切关系, 所以性病一旦发生可以很快地向其它地方扩散。从开放城市向内地扩散, 从城市向小城镇扩散, 很快即可成为广范围流行的疾病。

7. 危害大

性传播疾病不能看成是单纯的外生殖器疾病。所有的性传播疾病都可以引起淋巴结炎, 或进入血循环引起全身病变; 梅毒和艾滋病还可侵犯心脏、肝脏、脑病变, 甚至引起死亡; 淋病可以引起附件炎和盆腔炎; 性病性淋巴肉芽肿和腹股沟肉芽肿可以引起慢性盆腔炎; 梅毒、淋病常引起不育症; 梅毒还可以毁坏面容, 造成畸形残废, 总之性传播疾病是一些危害甚大的疾病。

8. 有明确的高危人群

性病的主要攻击目标是有性乱行为的人。只要有性乱行为就有遭受性病感染的危险。“性乱”是不正当性行为的代称, 过去常用不洁性交来描述, 旧社会把逛妓院称“冶游”。不洁性交这种提法并不确切, 现在“冶游”这一提法也不适用。现在多用“性乱”这个词来描述有婚外性关系、嫖娼和卖淫等不

正当性行为。

9. 具有隐性病程和复发

有的性病，如梅毒可由于治疗不当自身免疫力改变而变为隐性梅毒。隐性梅毒临床症状消失，血液内仍有螺旋体，血清反应阳性，疾病并未痊愈。一旦抵抗力低下，患者仍可再发生临床症状和皮肤损害，这就是隐性梅毒复发。当出现隐性病程时患者常认为是治愈而停止治疗，所以在治疗过程中必须用血清反应来考核疗效，必须在血清阴转后才能判愈。

10. 可发生血源和胎盘感染

Ⅱ期梅毒血液中有大量的梅毒螺旋体，如果梅毒患者作为供血者，受血者接受血液可直接发生Ⅱ期梅毒。艾滋病也可通过血液传染，用含有艾滋病病毒血液制做的血液制品也可以传染他人。有这两种疾病的孕妇可以把病原体通过胎盘传染给胎儿，分娩后的新生儿可以患先天梅毒和艾滋病。

二、性行为与临床感染

性行为是人类最为关心，在认识上最不统一，在道德规范方面争论最多的行为之一。自古以来，由于时代和文化背景的不同，社会对性行为的态度也有所改变，把这种不同与改变可以比作一条性的“光谱带”，在这条“带”上以性禁锢、性禁欲，严格加以控制性行为为一端；而以性放纵、性解放，赞同人们在很大程度上享有性行为的自由为另一端，中间则是各种对性行为的移行态度，对性行为的不同态度与各自的社会文化及传统观念紧密相关，不同的社会文化有不同的认识，而传统观念又是对性行为重要制约因素。近年来，由于国际旅游业的

发展, 人员交往增多, 对性行为观念的改变等种种原因, 在我国早已消灭了三十多年的性病死灰复燃, 而且不断流行蔓延的趋势。从性行为医学与性传播性疾病的角度, 论述由于不良性行为引起的各种病原体感染, 以提高人们对性行为的认识, 树立正确的性行为观, 使之更加有利于性病的防治。

1. 人类对性行为的认识

性行为与人类社会其它许多正常或异常的人类行为一样, 其根源尚未得到充分阐明。自然科学和社会科学的长期研究, 为行为医学积累了许多有价值的材料, 并从生物的、心理的、社会与文明的角度提出了一些饶有趣味的理论, 为性行为的发生提出诸多的理论学说。

(1) 生理行为说

性行为是一种本能行为, 体内性激素的水平决定人的性要求, 也是人类天性所决定, 具有追求新异刺激、探求新奇事物的倾向, 这种倾向也可在性行为上表现出来。因此寻求婚姻以外的性交机会, 男性女性均存在, 而男性更为主动与突出。

(2) 社会行为说

婚姻是组成家庭的基本方式, 家庭是社会的基本单位, 发挥着从合作生产、经济联合到共同生活 (包括性生活) 与养老育幼的多种功能。但是并非所有婚姻都能为双方提供满意的性生活, 正常在这种情形下, 一些受性解放思想影响的人, 就出现了家庭以外的多种性恋行为, 造成家庭的分裂, 不管是个人还是对社会都是不幸的。

(3) 经济行为说

大多数人认为, 卖淫纯属是出于经济的需要, 由于历史与文化原因卖淫者中女性多于男性, 当今大多数女性卖淫是为追

求较高的物质享受，这些人以性行为得到自身的满足，又追求到了较高的物质享受。多数为无职业者，也有业余的，不管是什么动机，一切都是为金钱而进行性行为。

(4) 变态说

这种学说完全从态度的角度来解释淫乱行为，强调了性行为的满足，忽视了人的性行为主要受社会文化制约的一面。无论所谓的社会行为或经济行为都与个体本能的满足有关，然而人是社会的高级动物，具有社会性的人的全部行为，也包括性行为，必然受到社会与文化规范的制约。在人类几种主要本能活动中，性行为对外界环境因素最为敏感，易受制约甚至终生受制，这对其它本能活动是不可能的。从人类进化的角度看，过分限制人的性行为，剥夺人在满足性生理上的权利，不利于个人的心身健康发展。但是不加限制的、不负责任的性行为，虽然能无限制地满足个体的性行为，对个人和各个社会都会造成极大的危害，所以各个社会用合理合法的必要手段对性行为进行制约。

(5) 病态说

性放纵行为从来不被认为是一种“疾病”，且在可以预见的将来也不会被承认是一种生物医学意义上的“疾病”。从医学心理学及性传播疾病学角度来进行分析，性放纵是一种适应不良的病态行为，这是因为性放纵行为以及淫乱行为直接对身心健康具有明显的害处，它增加了感染多种病原体的机会而致引发疾病。它的产生是对自身生理行为和对所在社会文化环境适应失败的表现。

2. 性行为的方式及相关性感染

性行为相关性感染是指由于性行为而引起的感染，包括细

菌、病毒、衣原体、支原体、螺旋体等，其感染者与性行为方式有着极其密切的关系。卖淫、嫖娼是引起性行为感染疾病的主要方式，约占性感染者中的 90% 以上；其余性行为方式引起的感染约 10% 左右，引起的感染性疾病以淋病、梅毒为主，其次有非淋菌性尿道炎、软下疳、性病性淋病肉芽肿、腹股沟肉芽肿、生殖器疱疹、生殖器念珠菌感染、传染性软疣、滴虫性阴道炎、疥疮、巨细胞病毒感染等。据我国不完全统计，卖淫、嫖娼者的总人数已达数十万人，特别是在一些城市或地区，卖淫嫖娼引起的性行为感染性疾病相当流行，所以，控制卖淫嫖娼是消除性行为后感染性疾病的主要手段。

3. 性行为的场所及其感染频率

性行为的场所因地而异，受感染的频率也有所不同。我国为社会主义国家，法律明确规定，严禁卖淫嫖娼；严禁为卖淫嫖娼设立场所。由于受一些性解放、性自由论点的影响，在我国特别是在沿海开放城市卖淫嫖娼者较为严重，其主要分布在：宾馆、酒店、个体旅馆等场所，在这些场所中，因卫生条件的制约而会出现受感染机会及程度有所不同。

4. 性行为感染的特点

(1) 受多种病原体的侵袭

性行为感染性疾病的病原体有细菌、病毒寄生虫等。在病原体的感染中，有的为单一病原体感染，有的则是双重病原体感染或多种病原体感染。

(2) 性行为是病原体传播的主要途径

由于性行为而引起的病原体传播，性传播性疾病 (STD)，其主要是性交传染，可以沿着性的关系传播。

(3) 具有较强的隐蔽性

性传播性疾病与性乱行为有着密切关系。在我国由于受封建思想的束缚,由于缺乏性卫生知识,认为凡是与性有关的话题都是神秘的,不可言的,所以,由于性行为而引起的感染,有难言之隐,忍疾耐苦,失去有利的治疗时机,隐瞒疾病而使病原进一步扩散。

(4) 传播速度快、流行范围广

在性传播性疾病中,由于潜伏期短、感染后发病快,在同病人有过性接触的人群中感染率极高。性病不受国籍的影响,所有的国家都有性病感染和流行,性病的流行与国际交往的增多、旅游事业的发展、商业活动的人口流动有密切关系,所以某地区一旦发生性病,会很快向其它地方扩散。

(5) 危害性大

性感染主要攻击目标是有性乱行为的人。只要有性乱行为就有遭受性病感染的危险。在我国,性病的流行面广,严重危害广大人民的身体健康,有少数地区性病在成年人中竟然高达43.1%,造成很多病人畸形残废,丧失生育机能,甚至死亡。

5. 树立良好的性行为观念是防止感染的关键

(1) 正确认识性行为

对性行为的正确认识,就是要培养对性行为的正确态度。首先必须充分肯定性欲和性行为是人类的本能所在,性行为的功​​能不仅在于生育后代,除此之外,人类还有性生理和心理满足的需要。社会必须保证人们都有满足性欲的机会(一夫一妻制),承认人们有进行性行为的权利,破除关于正当性行为是肮脏的、低级的、下流的等错误道德观念。社会上的每一个人都应该懂得,性行为是具有一定的社会后果的,特别是婚前的

性行为，而不只是个人欲望的满足，在社会主义国家，任何性行为都必须为它所造成的后果负责。

(2) 健康的性行为

何为健康的性行为，是人们最为关注和争论较为剧烈的问题。人类不能过于压制自己的性欲望，也不能无限制地过分追求满足自己的性欲望，性的禁锢和性放纵对健康都是不利的。对性行为所造成的社会后果，要有充分的心理准备，在不能负担性行为的社会责任时，对性行为要采取谨慎克制的态度。个人的性行为要在符合法制和社会道德的范围内进行。虽然在许多国家中，法制和道德对性行为的要求不一定是合理的，但是违反这些道德和法制仍然会对个体的发展不利。人必须有远大的理想，应集中精力为社会进步多作贡献。健康的性行为必须以正确的性卫生知识为基础，大力提倡卫生健康的性行为，防治和减少性行为疾病的产生和传播。

三、性传播疾病发病原因

性病发病率居高不下的原因是多方面的，在当前的社会历史条件下是有其深刻的思想根源和社会根源的，其原因主要有以下几个方面。

(1) “性解放”思潮的影响

“性解放”使中国人传统的性观念发生了改变，“性解放”思潮对西方社会产生了巨大的震荡，结果放纵了婚外性活动。由于这种放纵导致了社会严重的性乱，由此而引起性病的流行。这种思潮在西方 60—70 年代流行严重，80 年代以后由于艾滋病的威胁和社会学家大声疾呼，才是这种思潮有所抑制。