

病毒性疾病诊断与治疗

Diagnosis and Treatment in Viral Diseases

主编 张卓然 倪语星 尚红



科学出版社
www.sciencep.com

病毒性疾病诊断与治疗

Diagnosis and Treatment in Viral Diseases

主编 张卓然 倪语星 尚 红

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书分绪论、病毒和病毒感染总论、常见人类病毒、病毒性疾病及临床综合症的诊断与治疗四篇。在绪论篇中阐述了病毒性疾病的概念;在病毒和病毒感染总论篇中提出正常病毒群与疾病的崭新观点;在常见人类病毒篇中介绍了 70 余种常见病毒的生物学性状、致病性与检查方法等;在病毒性疾病及临床综合症的诊断与治疗篇中介绍了 170 余种病毒疾病及临床综合症的诊断方法与治疗方案。本书针对临床薄弱环节,重点介绍病毒性疾病的实验室诊断及有效治疗。病毒性肝炎、腹泻及流感等疾病引发了对常见病和多发病的诊治与群防群治的举措;艾滋病的流行唤起了对病人的人文关怀和爱心;SARS 的发生导出了对新发现病原体和生物性突发事件的重视和应急。

本书既可作为临床病毒性疾病诊治的指导用书,又可作为临床工作者、医学院校师生工作与学习的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

病毒性疾病诊断与治疗 / 张卓然,倪语星,尚红主编. —北京:科学出版社,2009

ISBN 978-7-03-021741-7

I. 病… II. ①张…②倪…③尚… III. 病毒病—诊疗 IV. R511

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 056811 号

策划编辑:沈红芬 / 责任编辑:黄相刚 黄 敏 / 责任校对:李奕莹

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009 年 2 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2009 年 2 月第一次印刷 印张:41

印数:1—2 000 字数:975 000

定价:118.00 元

如有印装质量问题,我社负责调换

《病毒性疾病诊断与治疗》编写人员

主 编 张卓然 倪语星 尚 红

编 委 (以姓氏笔画为序)

王镇山 大连医科大学
刘文恩 中南大学湘雅医院
孙自镛 华中科技大学同济医学院
李向阳 温州医学院
吴爱武 广州医学院
汪正清 重庆第三军医大学
张凤民 哈尔滨医科大学
张卓然 大连医科大学
陈 端 昆明医学院
邵世和 江苏大学医学技术学院
尚 红 中国医科大学
金 红 中国医科大学
郑丛龙 大连大学医学院
夏佩莹 蚌埠医学院
倪语星 上海交通大学医学院
徐元宏 安徽医科大学
唐 立 大连医科大学
陶传敏 四川大学华西临床医学院
黄 敏 大连医科大学
褚云卓 中国医科大学

编 者 (以姓氏笔画为序)

王镇山	文 姝	刘文恩	刘 勇	孙文长	孙自镛
杨道锋	李向阳	李明成	李硕敏	吴爱武	汪正清
张凤民	张卓然	陆学东	陈迎迎	陈 端	邵世和
尚 红	金 红	郑丛龙	郑海华	姚荣欣	夏佩莹
倪语星	徐元宏	徐 莉	唐 立	陶传敏	黄 敏
褚云卓	管俊昌	薄志坚	穆 莎		

前 言

在临床微生物感染症中由病毒引起者约占 75%,而且传染性强、传播迅速、流行广泛、死亡率高、后遗症严重,病毒性疾病给人类带来了很大危害。但临床对病毒性疾病的诊断水平偏低,治疗很困难。因此,临床诊治能力的提高和医务人员的再学习是编写本书的理由。本书以病毒性疾病的诊治为中心,病毒基础与病毒性疾病的临床相结合,并且跨临床各学科;特点是按病毒的核酸分类来介绍病毒,介绍分子生物学与人类病毒性疾病的相关知识,既有基础研究,又有临床实践;本书是由微生物学、检验学和临床医学的专家共同完成的。

本书共分绪论、病毒和病毒感染总论、常见人类病毒、病毒性疾病及临床综合征的诊断与治疗四篇,共 33 章。在病毒基础中提出正常病毒群与疾病的崭新观点;在常见人类病毒篇中叙述了 70 余种主要的 DNA 病毒、RNA 病毒和反转录病毒的分类、生物学特性和致病性与检查方法等;病毒性疾病及临床综合征的诊断与治疗篇为本书的重点,全面叙述我国常见及重要的病毒性疾病,介绍了 170 余种各系统的病毒性疾病和临床综合征,包括病原学、流行病学、发病机制和病理、临床表现、实验室检查、诊断与鉴别诊断及治疗方法等,突出现代的实验室诊断技术,尤其是以标本直接检查的非培养法鉴定技术。本书针对临床的薄弱环节,重点介绍病毒性疾病的实验室诊断及有效治疗。

本书特色:①基础理论与临床实践相结合,由病毒学、实验室和临床三方面的专家参加编写,学科交叉,信息量大,融会贯通。②内容向临床倾斜,既包括了常见病和多发病,又介绍了最新进展;实验方法既是常用的,又是最先进的。③内容既与国外接轨,又以中国的国情为依据。④内容深入浅出,图文并茂。

由于本书涉及的专业较多,作者的学术水平和编写能力有限,工作经验不足,难免出现文字和内容上的缺点与错误,恳请广大同仁批评、斧正。

张卓然 倪语星 尚 红

2008 年 11 月 24 日

目 录

第一篇 绪 论

第二篇 病毒和病毒感染总论

第一章 病毒与病毒感染	(11)
第一节 病毒的基本特性	(11)
第二节 病毒感染的传播和临床类型	(18)
第三节 致病机制	(20)
第二章 正常病毒群与人类疾病	(22)
第一节 正常病毒群与宿主细胞	(22)
第二节 正常病毒群的变化与疾病	(24)
第三章 抗病毒免疫	(29)
第一节 先天抵抗力	(29)
第二节 抗病毒获得性免疫应答	(32)
第四章 病毒的实验室检查	(36)
第一节 病原学诊断与病毒分类	(36)
第二节 临床标本的检验程序	(40)
第三节 病毒的分离与鉴定	(41)
第四节 病毒感染的快速诊断	(44)
第五章 抗病毒治疗	(47)
第一节 抗病毒药物	(47)
第二节 干扰素	(51)
第三节 免疫治疗与基因治疗	(52)

第三篇 常见人类病毒

第六章 单正链 RNA 病毒	(57)
第一节 小 RNA 病毒科	(57)
第二节 杯状病毒科	(65)
第三节 星状病毒科	(68)
第四节 披膜病毒科	(69)
第五节 黄病毒科	(71)
第六节 冠状病毒科	(75)
第七节 戊型肝炎病毒属	(77)
第八节 动脉炎病毒科	(78)

第七章 单负链 RNA 病毒	(80)
第一节 正黏病毒科	(80)
第二节 副黏病毒科	(84)
第三节 布尼亚病毒科	(88)
第四节 弹状病毒科	(92)
第五节 沙粒病毒科(属)	(95)
第六节 线状病毒科(属)	(100)
第七节 波纳病毒科	(102)
第八章 双链 RNA 病毒	(105)
第一节 正呼肠病毒	(105)
第二节 轮状病毒	(106)
第三节 环状病毒	(109)
第四节 Colti 病毒	(111)
第九章 反转录病毒	(113)
第一节 反转录病毒科	(113)
第二节 嗜肝 DNA 病毒科	(122)
第十章 双链 DNA 病毒	(130)
第一节 痘病毒科	(130)
第二节 疱疹病毒科	(132)
第三节 腺病毒科	(144)
第四节 乳头瘤病毒科和多瘤病毒科	(150)
第五节 虹彩病毒科	(153)
第十一章 单链 DNA 病毒	(155)
第一节 细小病毒科	(155)
第二节 TT 病毒	(157)
第十二章 非寻常病毒	(159)
第一节 亚病毒	(159)
第二节 朊粒	(162)

第四篇 病毒性疾病及临床综合症的诊断与治疗

第十三章 病毒感染性疾病的诊断	(169)
第一节 流行病学诊断	(169)
第二节 临床诊断	(171)
第三节 病原学诊断	(173)
第四节 辅助诊断	(176)
第十四章 病毒感染性疾病的治疗	(180)
第一节 一般治疗	(180)
第二节 抗病毒药物治疗	(181)
第三节 干扰素及干扰素诱生剂	(192)
第四节 免疫治疗	(197)

第五节	基因治疗	(200)
第六节	中医中药治疗	(201)
第七节	其他治疗方法	(203)
第十五章	我国常见及重要的病毒性疾病	(204)
第一节	乙型肝炎	(204)
第二节	艾滋病	(214)
第三节	流感与人禽流感	(224)
第四节	病毒性腹泻	(230)
第五节	肾综合征出血热与汉坦病毒肺综合征	(236)
第六节	狂犬病	(245)
第七节	登革热与登革出血热/登革休克综合征	(249)
第十六章	上呼吸道感染	(256)
第一节	普通感冒	(256)
第二节	急性病毒性咽、喉炎	(261)
第三节	急性病毒性气管炎、支气管炎	(263)
第四节	病毒性会厌炎	(265)
第十七章	下呼吸道感染	(267)
第一节	急性细支气管炎	(267)
第二节	病毒性肺炎	(270)
第三节	严重急性呼吸综合征	(275)
第四节	人禽流感	(282)
第五节	病毒性胸腔积液	(286)
第六节	流行性胸痛	(290)
第十八章	胃肠道及相关器官的感染	(292)
第一节	病毒性口炎	(292)
第二节	病毒性涎腺炎	(297)
第三节	病毒性胃肠炎	(305)
第四节	病毒性胰腺炎	(312)
第十九章	病毒性肝炎及肝胆管感染	(317)
第一节	甲型肝炎	(317)
第二节	戊型肝炎	(321)
第三节	丙型肝炎	(323)
第四节	庚型肝炎	(328)
第五节	TT 病毒性肝炎	(330)
第六节	急性无结石性胆囊炎	(331)
第七节	原发性硬化性胆管炎	(332)
第二十章	中枢神经系统的感染	(335)
第一节	病毒性脑膜炎(无菌性脑膜炎综合征)	(335)
第二节	病毒性脑炎	(341)
第三节	病毒性脑脊髓炎(神经脱髓鞘性白质病)	(349)

第四节	人传染性海绵状脑病	(355)
第五节	影响脑神经的病毒感染性疾病	(359)
第六节	Reye 综合征	(364)
第七节	慢性疲劳综合征	(368)
第二十一章	神经、肌肉与关节系统的感染	(373)
第一节	急性感染性多发性神经炎	(373)
第二节	急性脑脊髓炎	(377)
第三节	病毒性关节炎	(382)
第四节	多发性肌炎	(385)
第二十二章	泌尿生殖道感染	(391)
第一节	病毒性尿道感染	(391)
第二节	溶血性尿毒综合征	(396)
第三节	病毒相关性肾炎	(401)
第四节	病毒性睾丸炎	(409)
第五节	病毒性卵巢炎	(411)
第六节	病毒性宫颈炎	(416)
第七节	病毒性外阴阴道炎	(420)
第八节	病毒性盆腔炎	(424)
第九节	外生殖器病毒感染	(426)
第二十三章	产科与妇科感染	(435)
第一节	妇科手术后感染	(435)
第二节	分娩手术后感染	(441)
第三节	巨细胞病毒性产后子宫内膜炎	(453)
第四节	产后腮腺炎病毒性卵巢静脉血栓病	(455)
第二十四章	妊娠期病毒感染致先天畸形	(458)
第一节	先天性感染	(458)
第二节	先天性疱疹病毒感染	(459)
第三节	先天性风疹综合征	(467)
第四节	妊娠期人乳头瘤病毒感染	(472)
第五节	妊娠期其他病毒感染	(476)
第二十五章	心血管系统感染	(481)
第一节	病毒性心肌炎和心包炎	(481)
第二节	病毒感染与先天性心血管疾病	(501)
第二十六章	造血系统和淋巴系统感染	(504)
第一节	病毒感染与贫血	(504)
第二节	传染性单核细胞增多症	(511)
第三节	噬血细胞综合征	(513)
第二十七章	眼及其周围结构的感染	(517)
第一节	眼睑病毒感染	(517)
第二节	病毒性结膜炎	(519)

第三节	病毒性角膜炎	(523)
第四节	病毒性葡萄膜视网膜炎	(529)
第五节	人类免疫缺陷病毒所致眼部感染	(536)
第六节	耳的病毒感染	(537)
第七节	急性病毒性鼻炎	(540)
第二十八章	皮肤与软组织感染	(543)
第一节	病毒性皮肤感染	(543)
第二节	病毒性软组织感染	(552)
第三节	与人或动物咬伤相关的感染	(554)
第二十九章	骨髓炎与病毒性关节炎	(559)
第一节	骨髓炎	(559)
第二节	病毒性关节炎	(560)
第三十章	病毒性感染与肿瘤	(566)
第一节	肝炎病毒与原发性肝癌	(566)
第二节	宫颈癌	(572)
第三节	淋巴瘤	(577)
第四节	人乳头瘤病毒与喉乳头瘤	(582)
第五节	EB 病毒与鼻咽癌	(585)
第六节	人类嗜 T 细胞病毒与白血病	(589)
第三十一章	特殊人群的病毒感染	(595)
第一节	AIDS 病人的感染	(595)
第二节	器官移植受者的感染	(598)
第三节	中性粒细胞减少症病人的感染	(601)
第四节	免疫缺陷与反复感染	(602)
第五节	老人与儿童的病毒感染	(603)
第六节	旅行者的病毒感染	(604)
第三十二章	医院病毒感染	(606)
第一节	医院病毒感染的流行病学	(606)
第二节	临床常见病毒的医院感染	(607)
第三节	医院病毒感染的实验室检查	(619)
第四节	医院病毒感染的监测	(621)
第三十三章	病毒感染的预防	(623)
第一节	病毒性疾病的预防原则	(623)
第二节	病毒性疾病的预防疫苗接种	(624)
第三节	病毒性疾病的预防策略与相关法规	(627)
第四节	病毒引起的突发公共卫生事件的处理与控制	(630)
索引		(634)

第一篇 绪 论

传染病是严重威胁人类健康的一个公共卫生问题,据世界卫生组织(WHO)2002年报告,在对人类危害最严重的48种疾病中,有40种是传染病和寄生虫病,占总发病人数的85%。在传染病中,由病毒引起的感染症又占70%~80%,人类经过长期艰苦努力,在防治病毒性疾病中已取得显著成绩,有的传染病已被消灭或即将消灭(如天花、脊髓灰质炎),有的发病数大为减少(如麻疹、乙型脑炎等);然而,有些病毒性疾病的发病仍居高不下(如病毒性肝炎、病毒性腹泻等)或时有反复,甚至呈现重新蔓延和肆虐的趋势(如性传播病毒性疾病、艾滋病等),发病率明显飙升。在我国,病毒性肝炎、艾滋病、病毒性腹泻、性传播疾病、呼吸道传染病和出血热等六种病毒性疾病的发生和流行仍严重威胁着群众的健康。急性呼吸道感染、艾滋病、慢性阻塞性肺疾病(COPD)和腹泻等疾病已成为世界十大致死原因中的第3、4、5、6位,四种疾病的死亡总数是占死因第1位的缺血性心脏病的2.19倍,是占死因第2位的脑血管疾病的2.8倍,见下表。

表 全球十大死亡原因排序

死亡排序	疾病	占总死亡数百分比	死亡数(百万/年)
1	缺血性心脏病	12.67	7.089
2	脑血管疾病	9.91	5.544
3	急性呼吸道感染	7.08	3.963
4	HIV/AIDS	4.78	2.673
5	慢性阻塞性肺疾病(COPD)	4.75	2.660
6	腹泻病	4.21	2.356
7	围生期疾病	3.95	2.213
8	结核病	2.98	1.669
9	呼吸道肿瘤	2.20	1.230
10	交通事故	2.13	1.193

更为严重的是,近30年来,40多种新发感染病(emerging infectious disease,EID)不断袭击人类,如艾滋病、埃博拉出血热、尼帕病毒感染、严重急性呼吸综合征(SARS)、人禽流感的局部暴发或全球流行。

一、病毒及病毒感染性疾病的特点

众所周知,人降生的霎时,皮肤表面以及和外界相通腔道的黏膜表面都会受到微生物的侵染,数分钟后就能在这些原先是无菌的地方检出微生物的存在。但在胎儿尚未降生时,病毒就能通过胎盘致子宫内先天性感染,即所谓垂直传播综合征。“TORCH”是指常见垂直传播的病原体,除了T(taxoplasma,弓形虫)以外,剩余的“ORCH”都是病毒(R为风疹病毒、C为巨细胞病毒、H为疱疹病毒、O为其他病毒)。这种垂直传播是病毒与宿主在生物进化中形成的固有形式,也是由于病毒的严格细胞内寄生性所决定的在宿主内传递的保护性措施。

病毒是一类亚细胞(无细胞结构)的感染介质,个体微小,结构简单,其核心仅含一种核酸类型(DNA或RNA),外被蛋白质衣壳,构成核衣壳,即病毒体的基本结构。病毒寄生在宿主细胞内以复制的方式进行增殖,其抵抗力特殊,一般是耐冷不耐热,对抗生素不敏感,干扰素敏感;病毒种类繁多,约有71科(family)、203个属(genera)、3954种(species)。

在人类传染病中约75%以上是由病毒感染所引起,在冬季呼吸道传染病中,由病毒引

起者占 90% 以上。病毒传染性极强,传播速度快,人群对麻疹、腮腺炎等普遍易感,感染率达 100%。病毒会引起严重感染,临床病程凶险,死亡率高或病后有严重合并症和后遗症,如脊髓灰质炎病毒感染致小儿麻痹,乙型脑炎病毒感染致失聪、痴呆等,HIV 病毒感染致严重免疫缺陷综合征,狂犬病的死亡率可达 100%。病毒感染可引起多种后果,多为隐性感染,而且有些病毒具有自限性特征,如鼻病毒、冠状病毒、甲型肝炎病毒的感染等;显性感染表现为急性感染和持续性感染,后者较常见。

病毒感染就其本质而言是一种分子水平的感染,所谓严格细胞内寄生性是病毒衣壳或包膜表面的配体与宿主细胞膜表面的相应病毒受体结合,病毒受体也决定了病毒的嗜性或病毒的宿主谱。这种特异结合介导病毒进入细胞后,脱壳暴露病毒核酸并开始进行生物合成,此时在细胞内检测不到病毒颗粒,称黑暗期。生物合成的后果可形成增殖型感染,复制大量子代病毒引起宿主细胞的裂解,致溶细胞型的感染后果。病毒基因组在增殖性感染中,其表达调控涉及三方面:① mRNA 转录水平的调控;② 蛋白质翻译水平的调控;③ 亲代病毒基因组复制水平的调控。整个过程既受自身编码的调节蛋白的影响,也受宿主细胞的酶或蛋白分子的控制,从而使病毒能够完成复制周期,产生大量子代病毒。感染的另一种类型是当 DNA 病毒或反转录 RNA 病毒进入细胞后暴露核酸,病毒以 DNA 或以 RNA 为模板反转录为 DNA 后,以前病毒 DNA 的形式整合到宿主细胞染色体中,成为细胞染色体中一段 DNA 序列,完成真正意义上的分子水平寄生,并随细胞的分裂而将病毒 DNA 片段分布于子代细胞中。这种感染状态可致病毒的潜伏感染、慢发病毒感染或致宿主细胞发生转化,引起恶性的细胞转化致癌。

二、病毒感染与临床类型的多样性

病毒感染与临床的关系十分密切。首先,病毒与宿主细胞的关系极为密切和复杂,导致临床类型的多样化。有的病毒感染机体,虽在细胞内增殖,但却不表现任何症状或呈亚临床感染,幸好这种表现在多数病毒的感染中占多数;显性感染者可出现典型临床表现,但近些年来由于病毒的变异和机体反应性的变化,显性感染也多为不典型,使病毒性疾病的临床诊断与治疗复杂化。

1. 多样化的显性感染 病毒显性感染为急性感染与持续性感染。甲型和戊型肝炎病毒呈急性感染,一般不转慢性,而且呈自限性临床经过,故预后良好。持续性感染分为三大类:① 潜伏感染,如单纯疱疹病毒 1、2 型,水痘-带状疱疹病毒等;② 慢性感染,如乙型和丙型肝炎病毒等;③ 慢发病毒感染,如麻疹病毒致亚急性硬化性全脑炎(SSPE),HIV 致免疫缺陷综合征等。乙型和丙型肝炎多由急性感染转为慢性经过,常出现慢性迁延型与复发型,可发展为肝硬化和原发性肝癌,预后较差。有的病毒感染可呈潜伏或静止状态,当受到某些因素的刺激时,使静止病毒激活又引发显性感染,如单纯疱疹病毒 1、2 型和水痘-带状疱疹病毒。这种静止状态和显性感染交替进行,而潜伏感染可伴宿主终生。有的病毒仅引起急性感染,而麻疹病毒不仅可引起急性感染,在遇到少数免疫功能低下的儿童时可转为慢发病毒感染,麻疹感染后数月、数年后会出现 SSPE;HIV 的感染过程是典型的慢发病毒感染,开始经 1~2 周的原发感染,急性期后转为无症状的潜伏期,历时 5~15 年;长潜伏期后再出现症状时,则进入 AIDS 相关综合征(ARC)阶段;待感染者出现免疫功能缺陷时最终进入典型 AIDS 阶

段,这些 AIDS 的临床表现一旦出现,病情会呈亚急性进行性加重,病人多数在 2 年内死亡。

有些病毒具有泛嗜性,可引起多器官、多组织的损害。如肠道病毒中的柯萨奇病毒和 ECHO 病毒既可引起无菌性脑膜炎、脑炎和轻瘫,又可引起疱疹性咽峡炎、手足口病、流行性胸痛、心肌炎、心包炎和眼结合膜炎等;就嗜肝的乙肝病毒而言,除引起肝脏损害外,可累及全身各系统、组织,引起肝外疾病。相反,一种临床表现也可由不同病毒所致,如能引起腹泻的病毒就有轮状病毒、肠道腺病毒、诺如病毒、星状病毒等,这就增加了对腹泻病人的病原学诊断的负担;同样,流感病毒、禽流感病毒、冠状病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒等,也会增加急性呼吸道病毒感染的病原学诊断的复杂性。肠道病毒由粪-口途径传播,不引起消化道症状,其攻击的靶细胞却是神经细胞;同样,虫媒病毒(α 病毒、乙型脑炎病毒、森林脑炎病毒等)、狂犬病病毒均引起中枢神经系统损伤。风疹病毒、巨细胞病毒、乙型肝炎病毒、人免疫缺陷病毒等均可引起围生期感染和垂直传播,导致胎儿早产、流产,甚至导致先天性畸形。

2. 揭示“非感染性疾病”的病毒病因 在临床各科中有许多疾病,如 1 型糖尿病、甲状腺功能亢进症、肾病、动脉硬化性心脏病、高血压、再生障碍性贫血、血小板减少性紫癜、关节炎等,在对这些疾病的记载中多数认为是非感染性疾病,但随着对这些疾病的深入研究,发现在发病过程中均与病毒的感染有一定关系。现在发现,病毒感染还是心血管疾病猝死的诱因。总之,在许多非感染性疾病的病因和诱因中,病毒感染的地位越来越受到关注。

3. 揭示肿瘤发生的病毒病因 肿瘤是当今世界上引起人类死亡的三大病因之一,至今能确定的病毒致癌性是 1980 年发现的人嗜 T 细胞病毒 I 型,可致成人 T 淋巴细胞白血病。随着肿瘤病因学研究的深入,又发现了许多病毒的感染与某些人类肿瘤的发生密切相关,其中以 DNA 病毒居多,如 EB 病毒与鼻咽癌、非洲儿童淋巴肉瘤,人乳头瘤病毒与宫颈癌,乙型肝炎病毒与原发肝癌,人疱疹病毒 8 型(HHV-8)与 Kaposi 肉瘤等有关;在 RNA 病毒中,丙型肝炎病毒与肝细胞癌、人嗜 T 细胞病毒 II 型等与毛细胞白血病具有密切相关性,逐步揭示了肿瘤发生的病毒病因。从病毒基因组来源的癌基因(oncogene)称为 V-onc,研究发现癌基因的活化和表达也可导致肿瘤的发生。

病毒感染的临床多样性表现提示临床工作要对病毒性疾病格外关注,要不断探索临床各科疾病与病毒感染的因果关系,对其发病机制的研究,以及提高对病毒性疾病的诊断与治疗技术,将是今后防治病毒性疾病的重要方向。

三、病毒性疾病实验室诊断技术的改革

病毒的分离培养与鉴定及血清学实验等传统实验技术,在病毒性疾病诊断中曾起着十分重要的作用。组织细胞培养仍然是发现新病毒的重要手段,是其他任何技术不可替代的。但是,在临床实验室里要准备实验动物或活细胞用于病毒的分离不容易。而且培养与鉴定的过程很繁琐、费时,诊断效率低。经典的血清学试验一般指中和试验、补体结合试验和血凝-血凝抑制试验等,操作费时、费力、敏感性差。即使目前已有一些商品化的诊断试剂盒用于病毒性疾病的诊断,但大多数是检验病人血清中的抗体,不能用于疾病的早期诊断。总之,传统的实验室诊断方法和目前应用的实验技术,远远不能满足临床诊断的需要,医生单凭自己的临床经验进行病毒性疾病诊断的事是经常发生的。据此,病毒性疾病的实

实验室诊断技术必须改革,要寻找和建立快速、特异、敏感和简便的实验技术,以适应临床工作的需要。

1. 建立快速、特异的用于早期诊断的检测技术 目前临床上用于病毒学诊断的试剂盒大多数是用 ELISA 的方法检测患者抗体的,尽管 ELISA 技术是近代血清学试验上具有革命性的成果,特异性和敏感性都很高,但检测 IgG 抗体的试验终究不能提供早期诊断的信息。所以,必须在发病的第一时间,在病人的标本中检测到病毒的抗原才能进行早期诊断,要检测抗体也要检测针对病毒早期抗原的抗体或 IgM 型抗体,才能达到早期诊断的目的。

2. 病毒核酸检测 随着分子生物学技术的应用,病毒性疾病的诊断已达到基因水平。自 1976 年以来先后建立了病毒核酸电泳、限制性内切酶谱分析、核酸分子杂交、聚合酶链反应(PCR)、病毒基因测序、限制性片段长度多态性分析(RFLP)和基因芯片(genomic chip)技术等。核酸杂交技术是根据病毒基因中特异的片段序列设计与其互补的特异性探针,检测标本中特异的病毒基因组核酸序列。常用的方法有斑点杂交(spot hybridization)、DNA 印迹杂交(Southern blot)、RNA 印迹杂交(Northern blot)和原位杂交(in situ hybridization)等,批量标本的筛选可用斑点杂交,病理标本上的检测可用原位杂交,探针的标记物可有放射性核素和非放射性的亲和素——生物素与地高辛等。

核酸杂交法可检测出标本中小量 DNA 和 RNA 分子,特异性高,对病毒感染的诊断无误,但检出核酸不能确定病毒是活的还是已经死亡的,而且实验的敏感性不够高。为弥补这一缺陷,20 世纪 80 年代创建了一种在体外模拟 DNA 复制过程的核酸扩增技术,设计一对引物,在 Taq 聚合酶作用下可于 2 小时内将靶 DNA 扩增数百万倍,即 PCR 技术,该法可检出标本中极微量的病毒,具有高敏感性、高特异性、简便、快速的特点,PCR 技术在微生物核酸诊断上具有划时代的意义。后来在 PCR 技术的基础上又衍生出 10 余种不同的 PCR 技术,如巢式 PCR(nested PCR)、反转录 PCR(RT-PCR)、多重 PCR 和实时定量 PCR 等。大幅提高了 PCR 技术的敏感性和应用范围,能检测出标本中 ng 甚至 pg 级的痕量核酸。

3. 体现个性化的诊断 循证医学要求医生的一切医嘱和医疗措施都要有实验室资料的支持,治疗要体现个性化,病毒学实验室对病人的检测也应体现个性化。筛选性实验针对批量样品,对筛选阳性标本要进一步论证检验,最后要用确认试验证明。在选择定性试验检测阳性后,还要从定性走向定量的检测,以证明感染的程度,动态掌握病毒与宿主双方相互作用的状态,并从病原学诊断的结果判定病程和预后,如用荧光实时定量 PCR 追踪检测乙型肝炎病人肝细胞中 HBV DNA 载量,以判断病人的病程变化、药物治疗效果、病毒耐药性及病人预后等。

四、抗病毒治疗的新思路

抗病毒治疗应采取既针对病毒,又针对机体的综合措施。在应用药物抑制或终止病毒在细胞内增殖的同时,还需提高机体的免疫应答,清除体内游离病毒与病毒感染的细胞,以达到治愈病毒感染的目的。但临床上抗病毒的治疗药物并不多,对病毒有效的药物更少,医师的选择空间也很少,特别是病毒对有些药物也产生了一定程度的耐药性。原本抗病毒药物很少已使临床很被动,再出现药物的耐药性,使临床的抗病毒治疗面临着巨大的挑战。所以,必须在新药开发、克服药物耐药性和治疗方法上进行革新。

(一) 开发新型抗病毒药物

1. 针对病毒黏附和穿入细胞的环节 通过影响病毒复制过程中任一环节均可达到阻断病毒复制增殖的目的,这是当今指导研究抗病毒药物的原则。设计病毒吸附蛋白(VAP)模拟分子,封闭病毒受体,阻断病毒吸附及进入细胞内;HIV 进入靶细胞需要三步:①病毒 gp120 与细胞受体 CD4 分子结合,病毒黏附;②gp120 与辅助受体 CXCR4 或 CCR5 结合,形成复合物(CD4-gp120-CXCR4/CCR5);③复合物启动 gp41 发生变构,导致病毒包膜与靶细胞膜融合,病毒进入细胞。针对这三方面可以设计:①黏附抑制剂,如 CD4M33 是由 27 个氨基酸组成的 CD4 模拟分子,能与 gp120 结合,阻断病毒感染;②辅助受体抑制剂,CCR5 的天然配体 β -趋化因子 MIP-1 和 RANTES,能与 gp120 竞争结合 CCR5 分子,通过下调靶细胞表达 CCR5 分子,干扰相关的细胞内信号传导通路,以及降低细胞对 HIV 的易感性等三条途径抑制 HIV 感染靶细胞;③膜融合抑制剂,T-20 能与 HR-2 竞争结合 HR-1,干扰发卡结构的生成,阻止病毒包膜与靶细胞膜之间的融合,从而阻止病毒的穿入。

2. 针对病毒复制中必需的代谢产物 竞争抑制病毒复制的酶类,如聚合酶、转录酶、复制酶及蛋白水解酶的活性,从而抑制病毒的复制。核苷类化合物在结构上与细胞中的嘌呤、嘧啶核苷和核苷酸相似,该类药物进入细胞后转化为三磷酸化合物,通过对底物的竞争,抑制病毒的聚合酶或反转录酶,最终抑制病毒 DNA 的合成和病毒复制。

3. 开发新抗生素 过去一直认为以病毒对抗生素不敏感而区别于其他微生物,近年来为寻找新的抗 HIV 药物,以抗生素作为一大类天然产物提供了丰富的资源,发现了一大批具有抗 HIV 活性的抗生素,使病毒对抗生素不敏感这个固有概念大有瓦解之势(见第十四章)。

4. 治疗性疫苗 此疫苗有别于传统的预防性疫苗,是一种以治疗疾病为目的的全新概念。实际上,以前已将某些疫苗用于疾病治疗,如葡萄球菌或大肠埃希菌自身菌苗用于顽固性感染(疖肿病或肾盂肾炎等)的治疗。目前,众多学者正在对细菌 DNA 以及含有 CpG 有效刺激序列的寡聚脱氧核糖核苷酸(CpG oligodeoxynucleotides, CpG ODNs)的作用机制进行研究,实验证明抗原抗体复合物疫苗、细菌 DNA 疫苗和 CpG ODN 等作用于机体能激发细胞免疫应答,尤其能增强以 Th1 型为主的免疫应答,激活特异性 CTL 细胞和 NK 细胞活性,产生 Th1 型细胞因子和 IL-12 等。对难治性乙型肝炎已启用乙肝表面抗原疫苗(rHBsAg)加 CpG ODN 联合应用,可使乙肝病人的血清 HBsAg 转阴。

5. 基因治疗剂 抗病毒基因治疗(antiviral gene therapy)目前还处于研究阶段,但已展现出美好的前景。①根据已知的病毒基因组序列设计与其序列互补的一段寡核苷酸称反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, asON)。一般设计的反义寡核苷酸都是针对病毒基因中的某关键序列,将其导入感染病毒的细胞中,通过与病毒基因的靶序列的互补结合,从而抑制病毒的复制。反义 RNA 抑制病毒靶基因的 mRNA 与核糖体的结合,从而抑制病毒功能蛋白或结构蛋白的转译;反义 DNA 可与病毒基因的关键序列结合,阻抑病毒 DNA 的复制和 RNA 的转录等。②根据已知病毒的 mRNA 序列设计短小的双链 RNA,导入感染病毒的细胞内致相同序列的病毒基因静止,同源的 mRNA 降解,称干扰 RNA(short interfering RNA, siRNA)。siRNA 能在细胞内复制并可在细胞内传代,故所引起的病毒基因静止作用不仅在注射部位的细胞内发生,还可转移到其他部位的组织和细胞,因此这种干扰现象具有放大效

应。③核酶(ribozyme)是既能与病毒靶基因序列结合又具有酶活性的一类 RNA 分子。核酶一方面能识别特异的 RNA 靶序列并与之互补结合;另一方面又具酶活性,能通过结合的特异位点切割降解靶 RNA,即切割病毒的基因组或 mRNA,减少或消除病毒的转录物,从而抑制病毒的复制。

(二) 针对病毒产生耐药的措施

哺乳动物通过进化而获得抗病毒感染的防御系统,如获得性非特异性的免疫因子——干扰素,但同时病毒也产生了反防御体系。其中,病毒最简单的反防御机制是感染后迅速关闭宿主细胞并很快地产生子代病毒。迅速关闭宿主细胞可防止干扰素和其他细胞因子的合成,而这些因子是获得性免疫系统和先天免疫系统实现功能所必需的。干扰素具有广谱抗病毒作用,对多种病毒感染起作用,主要用于 HAV、HBV、HCV、HSV、HPV 和鼻病毒等感染的治疗。干扰素毒性小,疗效稳定,但目前临床已有因反复应用致耐药性的报告,这也可能是病毒的反防御机制所致。

目前有关病毒耐药性机制的研究主要集中于两个方面,并为开发及研制抗病毒药物提供了参考。其一,可以参考病毒基因突变的情况修改化学药物的作用靶点,避免耐药性的发生;其二,可通过阻断细胞泵出系统的某些蛋白的作用来阻止耐药性的发生。但是大多数学者认为,对病毒耐药性的发生应进行长期系统的监测。正确地选择抗病毒药物治疗的适应证,做好病毒耐药的监测工作。根据耐药株的药敏情况选择适当的抗病毒药物,有助于减少耐药病毒的发生几率,如根据不同药物诱导的病毒耐药株变异位点的差异选择联合用药。研究发现,HIV 对 3TC 产生的耐药株主要为 Met184Ile/Val 变异,而 M184V 的突变使 HIV 对 AZT 更加敏感,AZT 与 3TC 两者可产生协同作用,这一点在临床研究中得到了证实。此外,适当地联合用药可推迟或减少病毒耐药现象的出现,配合免疫调节剂等其他治疗措施有助于提高抗病毒效果,尤其是不断推出新的化学结构或作用机制的抗病毒药物,以及反义技术等新技术的出现等,为人类与病毒之间的斗争提供了新的有力武器。

(三) 治疗方法的改进

临床实践证明,目前使用的抗病毒药物只能抑制病毒的体内复制水平,对于处在相对潜伏状态的病毒无作用。一旦停药,病毒复制水平反弹,往往难以估计后果。从目前收集的资料来看,合理地选择抗病毒治疗的适应证和疗程,适当地采用联合用药,可有效地延缓或减少病毒耐药现象和撤药反应的出现。

1. 病毒治疗的适应证和疗程选择 当前公认的观点是,抗病毒药物用药的适应证以及治疗开始的时间应根据患者的症状、组织病理学和病毒在体内的复制水平而定,一般应尽可能延迟用药开始的时间。过去建议在 CD4 细胞 $< 500/\text{ml}$ 或病毒载量 HIV RNA > 2000 拷贝/ ml (RT-PCR 法)即开始治疗;而新方案建议对无症状 HIV 感染者在 CD4 细胞 $< 350/\text{ml}$ 或病毒载量 HIV RNA $> 550\,000$ 拷贝/ ml (RT-PCR 法)时才开始治疗。慢性乙型肝炎患者病毒复制指标(HBV DNA)阳性伴 ALT 升高者,是应用 3TC 治疗的合适指标。无症状携带者如病毒复制活跃,肝组织学显示明显炎症坏死者,也可试用 3TC 治疗。HCV 感染者的治疗情况类似,对于无症状的病毒携带者一般不需要抗病毒治疗,其他类型病毒感染的核苷类药物抗病毒治疗,一般只适用于出现症状的患者。关于抗病毒治疗的疗程目前还有争议,疱疹