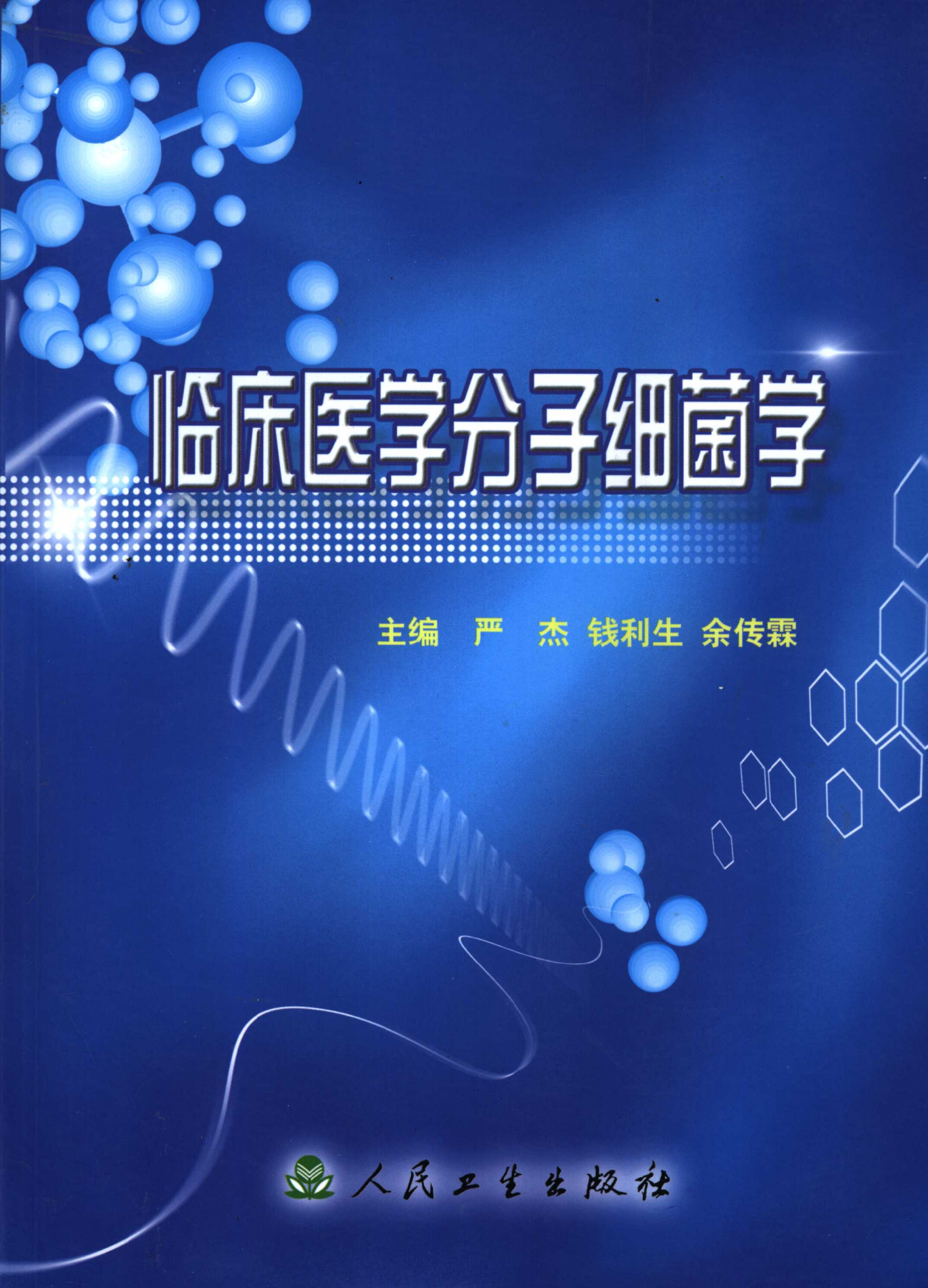




临床医学分子细菌学

主编 严 杰 钱利生 余传霖



人民卫生出版社

临床医学分子细菌学

主 编 严 杰 钱利生 余传霖

副主编 陈莉丽 李淑萍 黄 华

编 者(以姓氏笔划为序)

毛亚飞	王 媛	叶元康	阮 萍	孙伟莲
庄春燕	朱道银	汪 青	严 杰	陈学军
陈莉丽	李子华	李卫军	李淑萍	余永健
余竹元	余传霖	钊守凤	张劲松	杜季梅
何俊民	吴燕岷	金志熙	罗冬娇	罗依惠
罗晓婷	俞 红	俞树荣	胡纯达	钟晓芝
唐 琪	徐 薇	夏肖萍	钱利生	黄 华
童竞亚	楼永良	熊思东	薛健昌	

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

临床医学分子细菌学/严杰等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2005. 3

ISBN 7-117-06575-3

I. 临… II. 严… III. 医药学—分子生物学—病
原细菌—细菌学 IV. R378

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 004006 号

临床医学分子细菌学

主 编: 严 杰 钱利生 余传霖

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

印 刷: 北京市卫顺印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 43

字 数: 1018 千字

版 次: 2005 年 8 月第 1 版 2005 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-06575-3/R·6576

定 价: 92.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

目 录

第一篇 总 论

第一章 临床医学分子细菌学概论 ————— 余传霖 (3)

- 一、分子生物学技术在临床细菌学中的应用 (3)
- 二、表型技术与基因型技术 (7)
- 三、质量保证和质量控制 (10)

第二章 细菌感染的分子免疫学 ————— 熊思东 徐 薇 (12)

- 一、细菌感染及其特点 (12)
- 二、抗细菌感染的分子免疫机制 (15)
- 三、细菌逃逸免疫的分子机制 (24)

第三章 胞内菌感染的分子机制 ————— 余传霖 (28)

- 一、胞内菌感染的概述 (28)
- 二、胞内菌感染的分子免疫学机制 (29)

第四章 胞外菌感染的分子机制 ————— 余传霖 (41)

- 一、胞外菌的表面结构 (41)
- 二、胞外菌侵入机体的分子机制 (43)
- 三、胞外菌感染中的有害反应 (45)
- 四、抗胞外菌感染的分子免疫学机制 (48)

第五章 细菌的内化和信号转导 ————— 李淑萍 罗依惠 严 杰 (52)

- 一、细菌的粘附 (52)
- 二、细菌的内化 (53)
- 三、细菌感染的细胞信号传导 (56)

第六章 细菌生物膜——王媛 严杰 黄华 (61)

- 一、细菌生物膜的形成 (62)
- 二、细菌生物膜的结构与研究方法 (64)
- 三、细菌生物膜的特性 (65)
- 四、细菌生物膜的致病机制 (65)
- 五、细菌生物膜相关感染 (66)
- 六、细菌生物膜相关感染的控制 (67)

第二篇 技 术 篇**第七章 DNA 扩增技术**——俞红 (75)

- 一、PCR 的原理 (75)
- 二、PCR 试验的设计 (76)
- 三、PCR 扩增产物的分析 (78)
- 四、其他核酸扩增技术 (80)

第八章 聚合酶链反应在传染病诊断中的应用——余传霖 李淑萍 (84)

- 一、概述 (84)
- 二、聚合酶链反应 (85)
- 三、PCR 产物的确定和鉴定 (85)
- 四、PCR 与常规诊断法的比较及其优越性 (86)
- 五、PCR 存在的问题和其限制性 (87)
- 六、PCR 的实际应用 (89)
- 七、PCR 技术的进展和展望 (91)

第九章 随意引物 PCR 指纹分析法——汪青 (94)

- 一、原理 (94)
- 二、材料与方法 (95)
- 三、应用 (98)

第十章 应用 REP-PCR 作为基因组指纹图谱——何俊民 (101)

- 一、简介 (101)
- 二、材料 (102)
- 三、方法 (104)
- 四、注释 (106)

第十一章 基因组 DNA 消化和核糖体分型——钱利生 (109)

一、快速提取基因组 DNA 的方法	(110)
二、基因组消化和琼脂糖凝胶电泳	(111)
三、Southern 印迹法	(112)
四、探针制备	(113)
五、杂交	(114)
六、化学发光法检查探针-靶 DNA 杂交条带图谱	(114)

第十二章 脉冲电场凝胶电泳 ————— 余竹元 (116)

一、影响 DNA 分离的参数	(117)
二、条带图形的解释	(118)
三、PFGE 的应用	(118)
四、实验材料	(119)
五、操作步骤	(121)
六、条带图形的判断	(122)
七、存在问题	(123)
八、注解	(125)

第十三章 质粒分析 ————— 钱利生 黄 华 (127)

一、质粒 DNA 的提取	(127)
二、限制性内切酶质粒分析	(129)
三、琼脂糖凝胶电泳检查质粒 DNA	(132)
四、琼脂糖凝胶电泳决定 DNA 分子的大小	(132)

第三篇 各 论

第十四章 葡萄球菌 ————— 余传霖 (137)

一、鉴定和分型	(137)
二、致病机制	(138)
三、葡萄球菌引起的医院内感染	(143)

第十五章 链球菌 ————— 余传霖 (161)

一、链球菌的分子生物学鉴定方法	(161)
二、致病机制	(170)

第十六章 变形链球菌与龋病 ————— 罗晓婷 高 振 童竞亚 (176)

一、变形链球菌的分型	(176)
二、变形链球菌致龋机制	(176)

三、防治龋病的免疫方法	(180)
-------------------	-------

第十七章 淋病奈瑟菌	朱道银 (184)
-------------------------	-----------

一、一般生物学性状	(184)
二、分型	(185)
三、质粒	(186)
四、基因	(187)
五、耐药性变异及机制	(187)
六、实验室诊断	(189)
七、分子流行病学研究	(190)

第十八章 肺炎链球菌	汪 青 (193)
-------------------------	-----------

一、生物学特性	(193)
二、致病性	(194)
三、实验室诊断	(195)
四、流行病学调查	(196)
五、治疗	(198)
六、免疫预防	(199)

第十九章 脑膜炎球菌	余传霖 (202)
-------------------------	-----------

一、细菌的血清学特征	(202)
二、疾病的实验诊断	(203)
三、细菌的分裂	(206)
四、致病机制	(208)
五、流行病学研究	(209)
六、脑膜炎球菌的群体生物学	(211)
七、疫苗研究	(213)
八、研究展望	(213)

第二十章 肠球菌	张劲松 李卫军 童竞亚 (217)
-----------------------	-------------------

一、肠球菌的种类与性状	(217)
二、肠球菌的耐药性	(219)
三、肠球菌分子生物学检测法	(222)
四、肠球菌的致病作用	(227)
五、肠球菌引起的医院感染	(230)
六、肠球菌医院感染的实验室诊断及防治原则	(233)

第二十一章 致病性大肠杆菌 ————— 胡纯达 (238)

- 一、致泻性大肠杆菌的致病特点 (239)
- 二、各类致泻性大肠杆菌的致病机理 (240)
- 三、核酸分子诊断技术在致泻性大肠杆菌中的应用 (244)
- 附录: 探针杂交的操作方法 (249)

第二十二章 沙门菌 ————— 余传霖 (252)

- 一、菌株鉴定中的表型方法 (252)
- 二、基于 DNA 检测的基因型方法 (254)
- 三、基于染色体 DNA 分析方法 (254)
- 四、基于 PCR 的方法 (256)

第二十三章 志贺菌 ————— 余传霖 (259)

- 一、志贺菌的分子遗传学 (259)
- 二、志贺菌属毒力的分子生物学研究 (262)
- 三、流行病学研究 (263)
- 四、志贺菌菌苗的研究 (264)
- 五、展望 (265)

第二十四章 霍乱弧菌 ————— 钱利生 (270)

- 一、霍乱弧菌的生物学性状 (270)
- 二、实验室诊断 (271)
- 三、流行病学研究 (273)
- 四、研究进展和展望 (275)

第二十五章 幽门螺杆菌 ————— 钱利生 陈学军 (279)

- 一、Hp 基因组性质 (279)
- 二、Hp 基因的多样性 (280)
- 三、Hp 的检测和分型 (283)
- 四、流行病学研究 (284)
- 五、定植因子 (286)
- 六、展望和目标 (287)

第二十六章 空肠弯曲菌 ————— 金志熙 薛健昌 (291)

- 一、弯曲菌属的分类 (291)
- 二、弯曲菌属的分子生物学 (291)

三、弯曲菌属的鉴定	(293)
四、弯曲菌的致病机制	(293)
五、流行病学研究	(294)
六、展望	(298)

第二十七章 流感嗜血菌 余传霖 (300)

一、流感嗜血菌感染的诊断	(300)
二、致病机制的研究	(304)
三、流行病学研究	(305)
四、在科研工作中的应用	(310)

第二十八章 杜克雷嗜血菌 余传霖 (313)

一、杜克雷嗜血菌的生物学性状	(313)
二、杜克雷嗜血菌感染的分子生物学诊断	(314)
三、流行病学调查	(315)
四、其他研究中的应用	(316)
五、聚合酶链反应	(317)
六、核糖体分型	(318)
七、电穿孔法	(321)
八、通过转座子诱变的杜克雷嗜血菌基因突变	(322)
九、杜克雷嗜血菌基因的定向诱变	(323)
十、应用 pLS88 的杜克雷嗜血菌基因的互补作用	(324)

第二十九章 百日咳鲍特菌 夏肖萍 严 杰 (326)

一、外膜蛋白	(327)
二、百日咳毒素	(329)
三、丝状血凝素	(334)

第三十章 结核分枝杆菌 余永健 金志熙 (340)

一、结核病的实验诊断	(340)
二、结核病的免疫病理学	(347)
三、流行病学研究	(351)
四、试验方法	(354)
五、结语	(355)

第三十一章 白喉棒状杆菌 余传霖 (361)

一、白喉病的临床特征	(361)
二、白喉棒状杆菌及其毒素	(362)
三、白喉病的实验诊断	(362)
四、流行病学调查	(364)
五、白喉流行病学总观	(368)
六、展望	(369)

第三十二章 军团菌

余传霖 (371)

一、临床和环境标本中的军团菌检查	(371)
二、军团菌的鉴定	(377)
三、流行病学调查	(381)
四、分子克隆在嗜肺军团菌研究上的应用	(383)
五、展望	(384)

第三十三章 炭疽芽孢杆菌

王 媛 杜季梅 楼永良 (387)

一、生物学性状	(387)
二、炭疽病的传播方式及发病过程	(388)
三、炭疽杆菌致病的分子机理	(389)
四、实验室检查	(391)
五、防治原则	(392)

第三十四章 厌氧芽孢梭菌

钱利生 汪 青 余传霖 (395)

一、革兰阴性厌氧菌	(395)
二、革兰阳性厌氧菌	(399)
三、厌氧菌的分子诊断技术及应用	(405)

第三十五章 牙龈紫质单胞菌

吴燕岷 陈莉丽 (416)

一、流行病学	(416)
二、可能的致病机理	(417)
三、Pg 的常规检测方法	(418)
四、PCR 在 Pg 检测中的应用	(418)
五、Pg 分型与致病性的关系	(419)
六、小结	(419)

第三十六章 具核梭杆菌

庄春燕 孙伟莲 陈莉丽 (422)

一、一般特性	(422)
--------------	-------

二、分型	(423)
三、代谢与营养学特征	(423)
四、致病机制	(424)
五、分子生物学技术在 Fn 检测中的作用	(428)
六、Fn 与牙周病、牙髓病、尖周病和全身其他疾病的关系	(429)
七、Fn 对抗生素的敏感性	(431)

第三十七章 伴放线放线杆菌

吴燕岷 陈莉丽 (435)

一、流行病学	(435)
二、可能的致病机理	(436)
三、Aa 的常规检测方法	(436)
四、PCR 在 Aa 检测中的应用	(436)
五、Aa 分型与致病性的关系	(437)
六、小结	(437)

第三十八章 齿垢密螺旋体

唐 琪 陈莉丽 (439)

一、生物学性状	(439)
二、Td 在牙周病患者中的分布与含量	(440)
三、Td 的毒力因子	(441)
四、小结	(449)

第三十九章 钩端螺旋体

毛亚飞 严 杰 罗冬娇 (452)

一、钩端螺旋体的基因分类	(452)
二、钩端螺旋体的培养	(465)
三、钩端螺旋体的基因组学	(466)
四、钩端螺旋体的致病机制	(475)
五、流行与防治	(477)

第四十章 莱姆螺旋体

刘守凤 钟晓芝 严 杰 (483)

一、莱姆病的临床表现	(483)
二、莱姆病螺旋体的生物学特性	(483)
三、莱姆病螺旋体的致病性和免疫性	(484)

第四十一章 梅毒螺旋体

余传霖 严 杰 (488)

一、抗原成分分析	(488)
二、免疫机制	(490)

三、梅毒的免疫学和分子生物学诊断方法	(490)
四、梅毒的免疫预防	(492)

第四十二章 支原体 ————— 叶元康 (494)

一、柔膜体纲的特征	(494)
二、支原体的遗传学	(495)
三、支原体变异	(505)
四、支原体基因诊断方法	(507)
五、流行病学研究	(509)

第四十三章 衣原体 ————— 李子华 (517)

一、分类和命名	(518)
二、原体 (EB) 的化学组成	(519)
三、衣原体的生活周期	(531)
四、流行病学和所致疾病	(539)
五、实验室诊断	(544)
六、衣原体感染的免疫预防	(552)
七、综合防治	(553)
八、抗微生物制剂对衣原体的抑制作用	(554)

第四十四章 立克次体 ————— 俞树荣 (558)

一、概述	(558)
二、分类与系统发育	(559)
三、形态结构	(565)
四、抗原成分	(567)
五、分子遗传学	(570)
六、毒力因子与致病机制	(578)
七、立克次体的分子生物学检测	(581)

第四篇 细菌耐药性

第四十五章 β -内酰胺类抗生素的耐药性 ————— 余传霖 阮 萍 (591)

一、细菌对 β -内酰胺类抗生素耐药性产生的机制	(591)
二、 β -内酰胺酶检测和鉴定的分子生物学方法	(593)

第四十六章 氨基糖苷类抗生素的耐药性 ————— 余传霖 阮 萍 (607)

一、氨基糖苷类抗生素耐药性的发生机制	(607)
--------------------------	-------

二、氨基糖苷类抗生素耐药性的检测	(608)
三、研究展望	(621)

第四十七章 糖肽类抗生素的耐药性	余传霖 孙伟莲 (624)
-------------------------	---------------

一、糖肽类抗生素耐药性的机制	(624)
二、糖肽类抗生素耐药性的检测	(627)
三、流行病学研究	(631)
四、编码 D-丙氨酸-D-丙氨酸相关酶基因的鉴定	(635)
五、肠球菌糖肽耐药性的诱导	(636)
六、肽聚糖前体的分析	(637)
七、展望	(639)

第四十八章 喹诺酮类抗生素的耐药性	余传霖 阮 萍 (643)
--------------------------	---------------

一、喹诺酮类的抗菌作用机制	(643)
二、喹诺酮类耐药性的机制	(644)
三、喹诺酮类耐药性的检测	(646)
四、流行病学调查	(653)

第四十九章 其他抗菌药物的耐药性	余传霖 孙伟莲 (656)
-------------------------	---------------

一、其他抗菌药物耐药性的机制	(656)
二、耐药性的检测	(660)
三、流行病学上的应用	(662)
四、展望	(665)

第五十章 青霉素结合蛋白改变所致的 β-内酰胺类抗生素耐药性	余传霖 (668)
--	-----------

一、肺炎球菌和致病性奈瑟菌属中耐药性的演化	(669)
二、PBP 与细菌耐药性	(669)
三、肺炎球菌和致病性奈瑟菌属对青霉素和其他 β -内酰胺类耐药性的检测	(670)
四、PBP 及其与 β -内酰胺类亲和力的检测	(670)
五、肺炎球菌对青霉素耐药性的 PCR 检测	(671)
六、pbp 基因的扩增	(671)
七、pbp 基因指纹分析	(672)

临床医学分子细菌学



第一篇

总 论

第 一 章

临床医学分子细菌学概论

以核酸为基础的分子生物学方法对于医学微生物学的冲击已是确切不争的事实。实际上微生物学家早已站在分子生物学革命的最前沿，并为之作出了巨大的贡献。目前分子生物学技术在感染性疾病的诊断、治疗和流行病学的研究上有了广泛的应用。临床细菌学实验室的主要功能有：对临床标本的检查，从而确定细菌性感染的病因、特异性治疗和控制方法；制定对细菌性感染的特殊和一般措施和预防方法，以及特殊抗菌耐药性和毒力基因的检测等。

一、分子生物学技术在临床细菌学中的应用

临床细菌学实验室中常用的分子生物学方法有基于具有鉴定意义的基因和 DNA 序列而发展起来的 DNA 探针和聚合酶链反应（PCR）方法等。这些方法可用于细菌的鉴定、特异性毒力或耐药性基因（常规方法分离的培养物或直接由临床标本中分离者）的检查，以及以一种或多种细菌性指纹分析法所进行的基因组分析和流行病学分型等。

分子生物学方法的应用往往取决于临床和流行病学需要。在某些感染中，特别是在医院内获得的，或是具有广泛而普遍公共卫生意义的感染，阳性结果往往产生一些枝节性问题。分子生物学试验的快速性和敏感性，不论在病因学诊断、特异性毒力因子基因或抗菌耐药性基因的检测上，在医学或社会交叉感染中分离的细菌及流行爆发程度的决定上都优于以往的方法，这也正是分子生物学对现代医学作出的巨大贡献之一。

(一) 病原体鉴定和诊断上的应用

多数临床实验室中对免疫功能正常者标本的细菌学检查,简单的琼脂或肉汤培养基过夜培养的生物学增殖方法已足够应付。不过一些生长缓慢或难以培养的细菌(如分枝杆菌、支原体或在免疫功能降低者的感染中的细菌),不能按常规方法检出时,具有快速性和敏感性的分子生物学试验则显得更加重要。

分子生物学方法在常规细菌学检查中的广泛应用也包括琼脂培养基上生长物的进一步检查和鉴定。在以往的20余年中,临床细菌学实验室内常使用各种商业试剂盒来进行检验工作。这些试剂盒,虽包装良好、质量保证、价格适当,但多采用简化的表型试验方法,所以DNA鉴定和其他试验系统的试剂盒很快就能形成了交易市场。

1. 分离细菌的鉴定和定性

实际上这是对琼脂培养基上生长的纯培养物用新的方法检查细菌一些旧性质的试验。DNA扩增法和基因探针法可用以代替旧的生化反应或其他表型鉴定试验。有些细菌除了对其进行培养鉴定以外,还必须确定其致病力;决定是否存在致病因子(如白喉棒状杆菌分离物中的白喉毒素);决定临床过程及流行病学处理措施等。因此,可从细菌菌落中获取大量靶DNA进行试验。

对于实验和仪器的交叉污染问题不应都作较多考虑,而必须注意到分子诊断方法的应用,如在极其微量靶DNA存在的临床标本中如何使用PCR的问题。实验室工作者多乐于选用有确定对照和合法步骤的商业试剂盒。成功使用这些方法的决定因素包括试验者的综合素质及所需人员的配备、试剂、所用仪器的质量及技术基础等。

就多数活性检测范围而言,检测的速度可能关系不大,因为一般细菌鉴定和定性的许多常用表型试验试剂盒均可在当日出报告。

2. 临床标本中病原菌的检测

采用分子生物学方法,可以在临床标本中快速而直接地检出致病性细菌,且在少数感染中这一情况已成为现实。商业和公众部门曾集中注意力于缓慢生长或难以培养的细菌,如结核分枝杆菌和沙眼衣原体。应用DNA扩增的半自动化商业系统已在这些感染中应用,且日益增加。其优点很明显,特别是应用于缓慢生长或难以培养的细菌快速诊断。微生物面对生态环境的压力(如抗生素的应用等)而产生的快速演化过程在与临床细菌学有关的细菌中是经常发生的。因此,还难以判断非培养法是否就一定比培养分离法能获得更多的有关信息。

有关分子生物学技术应用的文献颇多,但所发表的资料多限于方法学的评估,而对现时临床或后果的研究并不多。因此,要以这些技术完全替代常规方法还为时过早,须作更多的研究。与评价任何一种新的诊断方法一样,方法的敏感性和特异性至关重要。如果要使分子生物学方法完全替代常规方法而不仅仅是一种补充性的技术,至少两者的敏感性应当相同。敏感性一般可以通过对标本和试验条件的处理而提高,所以敏感性并不能成为一种限制性因素。但特异性的问题则较多。最近有一报道,由于PCR方法所致的误诊,而将一疑似脑弓形体病的肾移植病人误诊为脑奴卡菌感染。用刚地弓形体(*Toxoplasma gondii*) P30基因为靶分子的引物作试验对脑脓肿病人标本产生阳性反应,但是脓肿标本经常规培养法检查的结果为星形奴卡菌(*Nocardia asteroides*)。以刚地弓形体P30基因为引物的PCR和由星形奴卡菌的DNA中都可获得预期大小的扩增子