



国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材

全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材

全国高等学校教材  
供卫生检验与检疫专业用

# 病毒学检验

第2版

主 编 裴晓方 于学杰  
副主编 陆家海 陈 廷 曲章义

 人民卫生出版社



国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材  
全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材

全国高等学校教材  
供卫生检验与检疫专业用

# 病毒学检验

第2版

主 编 裴晓方 于学杰

副主编 陆家海 陈 廷 曲章义

编 者 (以姓氏笔画为序)

于学杰 山东大学

王德全 广东药学院

左浩江 四川大学

曲章义 哈尔滨医科大学

许文波 中国疾病预防控制中心

李迎丽 重庆医科大学

宋敬东 中国疾病预防控制中心

张 勇 中国疾病预防控制中心

陆家海 中山大学

陈 廷 济宁医学院

周 俊 武汉科技大学

封少龙 南华大学

柳 燕 安徽医科大学

黄吉城 广东出入境检验检疫局

甄 清 吉林大学

裴晓方 四川大学

秘 书 左浩江(兼)

人民卫生出版社

## 图书在版编目 ( CIP ) 数据

病毒学检验 / 裴晓方, 于学杰主编. —2 版. —北京:  
人民卫生出版社, 2014  
ISBN 978-7-117-20428-6

I. ①病… II. ①裴… ②于… III. ①病毒学-医  
学检验-医学院校-教材 IV. ①R446.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 045624 号

人卫社官网	<a href="http://www.pmph.com">www.pmph.com</a>	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	<a href="http://www.ipmph.com">www.ipmph.com</a>	医学考试辅导, 医学数 据库服务, 医学教育资 源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

## 病毒学检验 第 2 版

主 编: 裴晓方 于学杰  
出版发行: 人民卫生出版社 ( 中继线 010-59780011 )  
地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号  
邮 编: 100021  
E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)  
购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830  
印 刷: 三河市尚艺印装有限公司  
经 销: 新华书店  
开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 26  
字 数: 649 千字  
版 次: 2006 年 7 月第 1 版 2015 年 4 月第 2 版  
2015 年 4 月第 2 版第 1 次印刷 ( 总第 2 次印刷 )  
标准书号: ISBN 978-7-117-20428-6/R · 20429  
定 价: 45.00 元  
打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: [WQ@pmph.com](mailto:WQ@pmph.com)  
( 凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换 )

# 全国高等学校卫生检验与检疫专业 第2轮规划教材出版说明

为了进一步促进卫生检验与检疫专业的人才培养和学科建设,以适应我国公共卫生建设和公共卫生人才培养的需要,全国高等医药教材建设研究会于2013年开始启动卫生检验与检疫专业教材的第2版编写工作。

2012年,教育部新专业目录规定卫生检验与检疫专业独立设置,标志着该专业的发展进入了一个崭新阶段。第2版卫生检验与检疫专业教材由国内近20所开办该专业的医药卫生院校的一线专家参加编写。本套教材在以卫生检验与检疫专业(四年制,理学学位)本科生为读者的基础上,立足于本专业的培养目标和需求,把握教材内容的广度与深度,既考虑到知识的传承和衔接,又根据实际情况在上一版的基础上加入最新进展,增加新的科目,体现了“三基、五性、三特定”的教材编写基本原则,符合国家“十二五”规划对于卫生检验与检疫人才的要求,不仅注重理论知识的学习,更注重培养学生的独立思考能力、创新能力和实践能力,有助于学生认识并解决学习和工作中的实际问题。

该套教材共18种,其中修订12种(更名3种:卫生检疫学、临床检验学基础、实验室安全与管理),新增6种(仪器分析、仪器分析实验、卫生检验检疫实验教程:卫生理化检验分册/卫生微生物检验分册、化妆品检验与安全性评价、分析化学学习指导与习题集),全套教材于2015年春季出版。

## 第2届全国高等学校卫生检验与检疫专业 规划教材评审委员会

主任委员：裴晓方（四川大学）

副主任委员：和彦苓（包头医学院）  
康维钧（河北医科大学）  
吕昌银（南华大学）

委员（排名不分先后）：

孙成均（四川大学）  
毋福海（广东药学院）  
陈廷（济宁医学院）  
孙长颢（哈尔滨医科大学）  
邱景富（重庆医科大学）  
姚余有（安徽医科大学）  
吕斌（华中科技大学）  
陆家海（中山大学）  
张加玲（山西医科大学）  
李磊（南京医科大学）  
李娟（吉林大学）  
高希宝（山东大学）  
罗萍（成都中医药大学）  
程祥磊（南昌大学）  
左云飞（大连医科大学）  
周华芳（贵阳医学院）  
张凯（济宁医学院）  
贾天军（河北北方学院）  
梅勇（武汉科技大学）  
江新泉（泰山医学院）  
于学杰（山东大学）  
许文波（中国疾病预防控制中心）  
杨大进（中国疾病预防控制中心）

秘书：汪川（四川大学）

# 全国高等学校卫生检验与检疫专业 第2轮规划教材目录

- |                |   |                              |   |
|----------------|---|------------------------------|---|
| 1. 分析化学(第2版)   | 主 编 毋福海<br>副主编 赵云斌<br>副主编 周 彤<br>副主编 李华斌            | 10. 免疫学检验(第2版)               | 主 编 徐顺清<br>主 编 刘衡川<br>副主编 司传平<br>副主编 刘 辉<br>副主编 徐军发 |
| 2. 分析化学实验(第2版) | 主 编 张加玲<br>副主编 邵丽华<br>副主编 高 红<br>副主编 曾红燕            | 11. 临床检验基础(第2版)              | 主 编 赵建宏<br>主 编 贾天军<br>副主编 江新泉<br>副主编 胥文春<br>副主编 曹颖平 |
| 3. 仪器分析        | 主 编 李 磊<br>主 编 高希宝<br>副主编 许 茜<br>副主编 杨冰仪<br>副主编 贺志安 | 12. 实验室安全与管理(第2版)            | 主 编 和彦苓<br>副主编 许 欣<br>副主编 刘晓莉<br>副主编 李士军            |
| 4. 仪器分析实验      | 主 编 黄沛力<br>副主编 张海燕<br>副主编 茅 力                       | 13. 生物材料检验(第2版)              | 主 编 孙成均<br>副主编 张 凯<br>副主编 黄丽玫<br>副主编 闫慧芳            |
| 5. 食品理化检验(第2版) | 主 编 黎源倩<br>主 编 叶蔚云<br>副主编 吴少雄<br>副主编 石红梅<br>副主编 代兴碧 | 14. 卫生检疫学(第2版)               | 主 编 吕 斌<br>主 编 张际文<br>副主编 石长华<br>副主编 殷建忠            |
| 6. 水质理化检验(第2版) | 主 编 康维钧<br>主 编 张翼翔<br>副主编 潘洪志<br>副主编 陈云生            | 15. 卫生检验检疫实验教程:<br>卫生理化检验分册  | 主 编 高 蓉<br>副主编 徐向东<br>副主编 邹晓莉                       |
| 7. 空气理化检验(第2版) | 主 编 吕昌银<br>副主编 李 珊<br>副主编 刘 萍<br>副主编 王素华            | 16. 卫生检验检疫实验教程:<br>卫生微生物检验分册 | 主 编 张玉妥<br>副主编 汪 川<br>副主编 程东庆<br>副主编 陈丽丽            |
| 8. 病毒学检验(第2版)  | 主 编 裴晓方<br>主 编 于学杰<br>副主编 陆家海<br>副主编 陈 廷<br>副主编 曲章义 | 17. 化妆品检验与安全性<br>评价          | 主 编 李 娟<br>副主编 李发胜<br>副主编 何秋星<br>副主编 张宏伟            |
| 9. 细菌学检验(第2版)  | 主 编 唐 非<br>主 编 黄升海<br>副主编 宋艳艳<br>副主编 罗 红            | 18. 分析化学学习指导与习<br>题集         | 主 编 赵云斌<br>副主编 白 研                                  |

# 前 言

新发传染病中,至少有 2/3 由病毒引起。自 2002 年严重急性呼吸综合征(SARS)突发、2009 年甲型 H1N1 流感横行,到逐年增多的手足口病例和诺如病毒腹泻,而教材编写期间正值埃博拉出血热肆虐和中东呼吸综合征发生,病毒性疾病的防控引起全球极大关注。《病毒学检验》作为卫生检验与检疫专业的必修课教材,在此之际再版,更具现实意义。

病毒性疾病的防控,需要根据临床表现和流行病学特征,推测可能的病毒类型,通过实验室检测确定病原。因此,本版教材除在总论篇沿用第 1 版的思路外,各论篇内容不再按病毒分类学进行编排,而是选择对人群健康危害较大的病毒性疾病,以感染途径、所致疾病为主线,按引起的主要临床表现、标本的种类及采集、主要病毒的生物学和流行病学特征、实验室检测、预防与治疗原则进行编排。由于核酸检测与分析技术将在病毒检验中发挥更重要的作用,本版增加了不少相关新技术的介绍和序列进化分析的实例;在电子显微镜观察技术部分缩减了与病毒检测实践联系不强的电镜的结构和原理介绍,增加了典型病毒电镜照片的识读内容;第二篇开始增加了病毒分类和复制知识的介绍。通过这些改变,期望学生能更多结合疾病预防控制和检验检疫工作的实际需求,提高综合分析和解决问题的能力。在编委队伍方面,有病毒检验和防控第一线的中国疾病预防控制中心的许文波、张勇、宋敬东以及广东出入境检验检疫局黄吉城等专家的参与,使本教材更具实际指导意义,而归国学者的加盟,更有利于教材与国际接轨。综上,本书除了作为卫生检验与检疫专业本科生教材外,也可供病毒检验和疾病预防控制相关工作人员参考使用。

本教材内容丰富,使用时可根据授课学时选择教学内容,如第六章呼吸道感染病毒及其检验,可以流感病毒为例深入介绍,其他内容则引导学生进行归纳比对,找出共性和特点,鼓励同学查阅最新的研究进展进行讨论。另一方面,鼓励授课教师查阅相关文献和使用本书推荐的参考书,特别是 *The Foundations of Virology*, *Lennette's Laboratory Diagnosis of Viral Infections* 和 *Fields Virology* 等外文书籍,将这些参考资料的内容融入教学过程。

特别感谢中国疾病预防控制中心宋敬东博士,他为本版教材提供了大量的珍贵电镜照片;感谢华西公共卫生学院卫生检验与检疫系的周涛博士等为本教材后期编辑、校对做的大量工作。此外,本版教材的成形离不开第 1 版编委打下的良好基础,离不开第 2 版各位编者的辛勤奉献,特别是工作在疾病控制预防中心和检验检疫的一线专家,在应对埃博拉疫情的同时,抽出宝贵时间,完成本书的撰写,在此一并致以衷心感谢。

本教材编写虽经过全体编委的用心撰写和反复修改,但由于编写时间和学识水平有限,书中难免不妥甚至错误之处,真诚希望各位同行专家,使用本教材的师生和读者批评指正。

裴晓方 于学杰  
2014 年 12 月 18 日

# 目 录

绪论	1
第一节 病毒与病毒学检验	1
一、病毒学前历史	1
二、病毒的发现	2
三、病毒的培养与观察	4
四、病毒的鉴定	5
第二节 病毒学检验的内容与应用范围	6
一、病毒学检验的一般原则	6
二、病毒学检验的主要内容和特点	9
三、病毒学检验的应用范围	12
第三节 新发传染病病毒的检测策略	14
一、影响新发传染病的因素	14
二、样品收集	16
三、分离新病毒	17
四、分子生物学鉴定新病毒	17

## 第一篇 病毒学检验技术

第一章 细胞培养技术	23
第一节 细胞培养概述	23
一、体外培养细胞的生物学特性	24
二、组织细胞培养种类	27
三、细胞系的建立、保存和鉴定	28
第二节 细胞培养技术	29
一、细胞培养的基本设施与条件	29
二、细胞准备	32
三、细胞污染监测与防控	38
第三节 细胞培养技术在病毒学检验中的应用	40
一、病毒的分离培养及鉴定	40
二、病毒定量检测	46
三、药物体外抗病毒试验	47
四、肿瘤病毒致癌机制研究	48



<b>第二章 鸡胚和动物接种技术</b> .....	50
<b>第一节 鸡胚接种技术</b> .....	50
一、鸡胚的结构与生理 .....	51
二、鸡胚的孵育和检查 .....	52
三、鸡胚的接种途径及方法 .....	52
四、病毒的检测 .....	56
<b>第二节 动物接种技术</b> .....	57
一、实验动物的种类与基本操作方法 .....	58
二、动物接种后的观察、标本采集和处理 .....	63
三、使用实验动物的基本原则 .....	65
四、病毒学检验中动物实验的基本步骤 .....	66
五、病毒学动物实验应注意的问题 .....	67
<b>第三节 鸡胚和动物接种技术在病毒检验中的应用</b> .....	67
一、在病毒分离中的应用 .....	67
二、在病毒鉴定中的应用 .....	69
三、在病毒性疾病发病及免疫研究中的应用 .....	69
四、在抗病毒药物和病毒疫苗效果及安全性检测中的应用 .....	69
五、疫苗的研制 .....	70
<b>第三章 病毒核酸检测与分析技术</b> .....	71
<b>第一节 核酸杂交技术</b> .....	71
一、基本原理 .....	71
二、核酸探针的制备 .....	72
三、Southern 印迹 .....	76
四、Northern 印迹 .....	78
五、其他核酸杂交技术 .....	79
<b>第二节 核酸扩增技术</b> .....	81
一、聚合酶链反应 .....	81
二、其他的靶序列扩增方法 .....	89
三、探针扩增方法 .....	91
四、信号放大技术 .....	91
五、核酸扩增方法在病毒检测中的局限性 .....	92
<b>第三节 基因芯片技术</b> .....	93
一、基因芯片定义 .....	93
二、制作方法 .....	94
三、检测技术 .....	95
四、分析与实验设计 .....	95
五、在病毒学检验中的应用 .....	96
<b>第四节 病毒基因分型技术</b> .....	97
一、病毒基因组的概念和特点 .....	97

二、基因分型的传统方法 .....	99
三、基因分型的新方法 .....	101
四、基因分型的应用 .....	102
<b>第五节 病毒核酸变异分析 .....</b>	<b>104</b>
一、病毒核苷酸序列变异的生物学基础 .....	104
二、病毒核苷酸序列变异分析中靶标序列的选择策略与方法 .....	106
三、病毒核苷酸序列数据的来源 .....	107
四、序列整理分析 .....	108
五、解决在实验设计中的不可避免的遗传异质性 .....	111
六、使用 MEGA 软件进行系统进化分析 .....	111
<b>第四章 病毒抗原与抗体检测技术 .....</b>	<b>117</b>
<b>第一节 免疫荧光技术 .....</b>	<b>118</b>
一、概述 .....	118
二、免疫荧光试验 .....	120
三、免疫荧光显微技术 .....	123
四、时间分辨免疫荧光技术 .....	124
<b>第二节 酶免疫技术 .....</b>	<b>127</b>
一、概述 .....	127
二、酶联免疫吸附试验 .....	131
三、免疫酶染色试验 .....	134
<b>第三节 放射免疫技术 .....</b>	<b>135</b>
一、概述 .....	135
二、放射免疫分析 .....	140
<b>第四节 中和试验、血凝试验及其他检测技术 .....</b>	<b>141</b>
一、概述 .....	141
二、中和试验 .....	141
三、血凝试验及血凝抑制试验 .....	145
四、补体结合试验 .....	149
五、单克隆抗体技术 .....	151
<b>第五章 电子显微镜观察技术 .....</b>	<b>154</b>
<b>第一节 电子显微镜简介 .....</b>	<b>154</b>
<b>第二节 透射电子显微镜样本的一般处理方法及技术 .....</b>	<b>156</b>
一、载网 .....	156
二、负染技术 .....	157
三、超薄切片制样技术 .....	165
四、免疫电子显微镜技术 .....	168
<b>第三节 病毒形态检测结果的分析 .....</b>	<b>172</b>
一、针对病毒负染检测结果的分析 .....	172



二、针对病毒超薄切片检测结果的分析 .....	173
三、病毒形态举例 .....	173

## 第二篇 常见各类病毒的检验

<b>第六章 呼吸道感染病毒及其检验</b> .....	189
<b>第一节 临床表现与标本采集</b> .....	190
一、临床表现类型 .....	190
二、标本采集与注意事项 .....	190
<b>第二节 常见呼吸道感染病毒的生物学和流行病学特征</b> .....	192
一、正黏病毒 / 流感病毒 .....	193
二、副黏病毒 .....	197
三、鼻病毒和其他小 RNA 病毒科病毒 .....	199
四、冠状病毒 .....	200
五、腺病毒 .....	202
六、水痘带状疱疹病毒 .....	204
<b>第三节 实验室检测</b> .....	205
一、标本类型与处理 .....	205
二、直接检测病毒 .....	206
三、病毒分离与鉴定 .....	207
四、血清学诊断 .....	209
五、抗病毒药物的敏感性实验 .....	210
六、实验方法的选择与报告 .....	211
<b>第四节 预防与治疗</b> .....	211
一、呼吸道病毒感染预防 .....	212
二、呼吸道病毒感染治疗 .....	212
<b>第七章 胃肠道感染病毒及其检验</b> .....	214
<b>第一节 肠道病毒及其检验</b> .....	214
一、临床表现与标本采集 .....	215
二、肠道病毒的生物学和流行病学特征 .....	219
三、实验室检测 .....	226
四、预防与治疗 .....	229
<b>第二节 腹泻病毒及其检验</b> .....	231
一、临床表现与标本采集 .....	231
二、常见腹泻病毒的生物学和流行病学特征 .....	232
三、实验室检测 .....	235
四、预防与治疗 .....	238



<b>第八章 皮肤和黏膜感染病毒及其检验</b> .....	240
<b>第一节 临床表现与标本采集</b> .....	241
一、临床表现类型 .....	241
二、标本类型与采集 .....	245
<b>第二节 常见皮肤和黏膜感染病毒的生物学和流行病学特征</b> .....	246
一、痘病毒 .....	246
二、疱疹病毒 .....	248
三、乳头瘤病毒 .....	252
<b>第三节 实验室检测</b> .....	253
一、标本类型与处理 .....	254
二、直接检测病毒 .....	254
三、病毒分离和鉴定 .....	257
四、血清学诊断 .....	258
五、新型疱疹病毒的实验室诊断 .....	260
<b>第四节 预防与治疗</b> .....	260
一、天花 .....	260
二、单纯疱疹病毒 .....	260
三、水痘 - 带状疱疹病毒 .....	261
四、人巨细胞病毒 .....	261
五、EB 病毒 .....	262
六、乳头瘤病毒 .....	262
<b>第九章 眼部及心血管感染病毒与检验</b> .....	264
<b>第一节 眼睛病毒感染</b> .....	264
一、腺病毒引起的眼部感染 .....	265
二、狂犬病毒引起的眼部感染 .....	268
三、疱疹病毒引起的眼部感染 .....	272
<b>第二节 心血管感染的病毒</b> .....	275
一、临床表现与标本采集 .....	275
二、心血管感染病毒的生物学和流行病学特征 .....	277
三、实验室检测 .....	278
四、预防与治疗 .....	279
<b>第十章 肝炎病毒及其检验</b> .....	281
<b>第一节 临床表现与标本采集</b> .....	281
一、临床表现类型 .....	281
二、标本类型与采集 .....	283
<b>第二节 常见肝炎病毒的生物学和流行病学特征</b> .....	283
一、甲型肝炎病毒 .....	283
二、乙型肝炎病毒 .....	285



三、丙型肝炎病毒 .....	291
四、丁型肝炎病毒 .....	293
五、戊型肝炎病毒 .....	294
第三节 实验室检测 .....	295
一、标本类型与处理 .....	296
二、直接检测病毒 .....	297
三、病毒分离与鉴定 .....	297
四、血清学诊断 .....	300
五、抗病毒药物的疗效检测 .....	305
六、肝炎病毒感染的实验室诊断 .....	305
第四节 预防与治疗 .....	306
一、HAV 和 HEV .....	306
二、HBV 和其他肝炎病毒 .....	307
<b>第十一章 出血热病毒及其检验</b> .....	<b>310</b>
第一节 临床表现与标本采集 .....	310
一、临床表现类型 .....	310
二、标本类型与采集 .....	312
第二节 常见出血热病毒的生物学和流行病学特征 .....	313
一、布尼亚病毒 .....	314
二、丝状病毒 .....	318
三、沙粒病毒 .....	326
第三节 实验室检测 .....	328
一、安全问题 .....	328
二、实验室病原学检测 .....	328
三、临床实验室检测 .....	331
第四节 预防与治疗 .....	332
一、布尼亚病毒 .....	332
二、丝状病毒 .....	333
三、沙粒病毒 .....	334
<b>第十二章 虫媒病毒及其检验</b> .....	<b>336</b>
第一节 临床表现与标本采集 .....	337
一、临床表现类型 .....	337
二、标本类型与采集 .....	341
第二节 常见虫媒病毒的生物学和流行病学特征 .....	342
一、生物学特征 .....	342
二、流行病学特征 .....	346
第三节 实验室检测 .....	353
一、标本类型与处理 .....	353



二、检测方法 .....	354
第四节 预防与治疗 .....	359
一、预防 .....	359
二、治疗 .....	360
<b>第十三章 反转录病毒及其检验</b> .....	362
第一节 人类免疫缺陷病毒 .....	362
一、临床表现与标本采集 .....	363
二、生物学和流行病学特征 .....	365
三、实验室检测 .....	370
四、预防与治疗 .....	374
第二节 人类嗜T细胞病毒 .....	375
一、临床表现与标本采集 .....	375
二、生物学和流行病学特征 .....	376
三、实验室检测 .....	377
四、预防与治疗 .....	378
<b>第十四章 朊粒及其检验</b> .....	379
第一节 临床表现与标本采集 .....	379
一、临床表现类型 .....	379
二、标本类型与采集 .....	380
第二节 朊粒的生物学和流行病学特征 .....	381
一、生物学特征 .....	381
二、流行病学特征 .....	385
第三节 实验室检测 .....	385
一、标本类型与处理 .....	386
二、检测方法 .....	386
第四节 预防与治疗 .....	389
一、朊粒病的防治原则 .....	389
二、朊粒病的治疗 .....	389
<b>参考文献</b> .....	391
<b>中英文名词对照索引</b> .....	392

# 绪论

病毒学检验(laboratory sciences for virus infection)是从维护公众健康的角度,以医学病毒学和流行病学为基础,借助免疫学、现代分子生物学和其他分析技术,对临床和流行病学现场的标本(如人或宿主动物的血液、尿、粪便、组织液和组织等)进行检测,确定感染的病毒种类及数量,追溯病毒的来源,监测和预测病毒的变迁,为人群中病毒性疾病的预防和控制提供技术支撑的一门学科。病毒学检验不同于实验病毒学或者诊断病毒学,具体表现在:①以预防群体性疾病为目的,而非仅仅诊断和治疗患者;②标本来源不仅仅是患者,还包括环境和动物;③通常需要分型以追踪传染源;④通常需要进行病毒变异分析,以预测流行趋势和为疫苗研发提供支撑。在介绍病毒学检验的一般原则、检验内容与特点,以及应用范围前,有必要简要回顾病毒与病毒学检验的发展历史。

## 第一节 病毒与病毒学检验

病毒(virus)是一类普通光学显微镜下不可见的、专性细胞内寄生的非细胞型微生物。其有别于其他微生物的最显著特点是:①病毒颗粒的形成并非通过病毒长大或分裂,而是通过装配已合成的病毒各结构成分,形成子代病毒;②病毒缺乏编码能源系统和蛋白质合成工具(核糖体)的遗传信息,只能依靠宿主细胞的代谢系统。尽管病毒很小,结构和组成也相对简单,只能寄生于活细胞内,但其在自然界的分布非常广泛,动物、植物、真菌和细菌均能被病毒感染,特别值得关注的是,人类传染病中约三分之二由病毒引起。20世纪70年代以来,全球新发现的大多数传染病病原是病毒,包括致死率很高的埃博拉病毒、本世纪初肆虐我国的SARS冠状病毒、易引起大流行的禽流感病毒、仍无有效治疗手段的人类免疫缺陷病毒等,且它们大部分具有动物源性。不同病毒感染人体后,导致的危害从轻微感冒、腹泻到呼吸衰竭、严重出血、神经系统异常、免疫系统破坏、器官严重损害等;而不同病毒,感染的途径各异,包括呼吸道、消化道、体液传播等等。那么,哪些因素决定了病毒感染有如此的多样性?病毒感染的历史是怎样的?培养病毒的历史可以追溯到什么时候?怎样进行病毒鉴定?

### 一、病毒学前历史

在早期的人类活动中已有病毒感染的历史记载。公元前3700年古埃及首都孟斐斯的象形文字曾记载了一位具有典型脊髓灰质炎临床症状的神庙祭司。古埃及法老拉美西斯五世死于公元前1145年,其保存完好的木乃伊的脸部有患过天花所造成的外形改变和皮疹发作过的印迹,经考古学家和古代病理学家研究,认为这是人类历史上现今发现的第一个天花病例,并推断早在公元前1161年,天花已经开始袭击埃及。在与病毒性疾病斗争的过程中,

人类逐步认识了预防和控制病毒性疾病的方法,如公元10世纪的北宋年间,我国在世界上首先采用人工免疫方法预防天花,方法是先收集并保存轻型患者的感染性材料,用棉花将其接种于需要人群的鼻孔内壁,虽然存在引起天花的风险,但取得了较好的免疫效果。英国医生 Edward Jenner 发现挤牛奶的妇女感染牛痘后不再感染天花,因此,1796年5月14日其用牛痘接种一名8岁小男孩并获得成功,此后牛痘接种在世界范围内推广,尽管一开始存在争议,但到19世纪已被广泛采用。牛痘接种对消灭天花产生了巨大作用。

为了观察到病原体,前人进行了不懈的努力。1665年 Robert Hooke 设计了一台复杂的复合显微镜,用其观察植物,第一次描述了植物细胞的构造,并首次用 cells(小室)命名所见的类似蜂巢的极小的封闭状小室(实际上只是观察到细胞壁)。1683年 Van Leeuwenhoek A 改进了显微镜,并用显微镜发现了单细胞微生物。

为了预防病原体感染,19世纪法国杰出的科学家、微生物学的奠基人, Louis Pasteur, 发明了狂犬病疫苗,并指出这种病原体是某种可以通过细菌滤器的“过滤性的超微生物”,其他科学家应用 Louis Pasteur 的基本思想先后研制出多种疫苗,如预防斑疹伤寒、脊髓灰质炎等疾病的疫苗。

为了确定某感染性疾病的病原, Robert Koch 根据其成功分离培养炭疽杆菌、结核杆菌和霍乱弧菌的研究经历,提出确定感染性疾病病原的四条准则(后被人们誉为著名的科赫法则):①从该病的每个患者都能发现这种病原体,且在健康者体内不存在;②该病原体不仅能从患者分离出来,而且能培养出纯品;③用此纯培养物接种易感动物或人时,能复制出相同的疾病;④从被接种的易感动物或人体,能重新分离到该病原体。罗伯特·科赫的四条准则,为以后发现和认识病原体确定了最基本的标准和研究思路,然而随着医学的发展,发现越来越多病毒性疾病的病因不能用传统的法则准确判定,某些病原体确实引发了传染病,但它们并不完全满足该法则的所有条件,如霍乱病原体从患者和健康人(携带者)体内都能分离到,这明显与第1个条件不相符;第2和第4个条件不适用于无法用细胞培养或没有合适的动物模型的病毒,例如,引起克雅病的朊粒还无法获得纯培养物;对于第3个条件,应考虑宿主对病原微生物的不同敏感性。因此,在对传染病病原体的确认上,科赫法则规定的是充分条件,而不是必要条件。针对科赫法则的局限性, David N. Fredricks 和 David A. Relman 提出了基因组时代的科赫法则:①疑似病原体的核酸应该在大多数病例中检出,并且仅可在与疾病相关的器官或组织发现该微生物的核酸;②在未患病的宿主或组织中很少或几乎检测不到与病原体相关的核酸;③疾病缓解时,与病原体相关的核酸拷贝数应减少或消失,疾病复发时情况相反;④若核酸检测可预示疾病发生或核酸拷贝数与疾病的严重程度有相关性,则核酸与疾病可存在强因果关系;⑤从现有核酸序列推断出的微生物特性应符合该生物类群的已知生物学特性,当疾病的表型可用基于核酸序列的系统发育关系进行推测时,则该序列更有意义;⑥应在细胞水平探求患病组织与病原体核酸的关系:如用原位杂交来显示发生组织病理变化或微生物存在的区域以证明微生物的存在;⑦基于核酸分析的上述证据可重复获得。上述修订对确定病毒性感染性疾病的病原更有意义。

## 二、病毒的发现

1. 植物病毒的发现 虽然 Louis Pasteur 曾对狂犬病进行了广泛深入的研究,并认为狂犬病是由“virus”(来自拉丁文“poison”)引起,但其未能将病毒和细菌等其他病原体相区别。现代病毒的概念起源于烟草花叶病毒的发现。





烟草花叶病的研究最早可以追溯到 1879 年。当时德国的发酵和植物营养学家 Adolf Mayer 将烟草花叶病株的汁液注射到健康烟草的叶脉中,引起了烟草的花叶病,再将患病的烟草叶汁煮沸,感染性消失,所以他认为烟草花叶病可能是由细菌所致。这也是植物病毒病害研究中所进行的首次传染试验。

1884 年,法国微生物学家 Charles Chamberland 发明了一种细菌无法滤过的陶瓷制过滤器(尚柏朗过滤器,其滤孔孔径小于已知细菌的大小),可除去液体中的细菌,该过滤器的发明是后期发现病毒的关键因素之一。1892 年,俄国生物学家 Dmitri Ivanovsky 在研究烟草花叶病时发现,将感染了花叶病烟草叶的提取液用尚柏朗过滤器过滤后,依然能使其他烟草感染;同时还发现,经细菌培养基培养,未见细菌生长,显微镜下也未见任何微生物,该研究提示有一种比以前所知的任何一种病原都小的病原体存在;但受当时主导的疾病细菌理论的影响,伊凡诺夫斯基对其发现尚无充分的自信,未提出具有创见性的结论,而将这种“传染性的滤液”简单地解释为是细菌分泌的一种可溶于滤液的毒素,因此并未深入研究。1898 年,荷兰微生物学家 Martinus Beijerinck 重复了伊凡诺夫斯基的实验,因为这种物质可以在染病的植物中进行复制,他认为其与毒素不同,可能是一种新的感染性因子。由于其实验未发现该病原的颗粒形态,因此他称之为“contagium vivum fluidum”(可溶性活传染物),进一步命名为“virus”(病毒),并认为病毒是以液态形式存在的(该观点后来被 Wendell Meredith Stanley 推翻,其证明病毒呈颗粒状)。此外,贝杰林克还进一步发现干烟叶中的病毒仍然具有侵染力,但经 90℃ 加热后失去感染性。贝杰林克冲破了 Louis Pasteur “疾病菌源学说”的框架,建立了病毒的基本概念。

2. 动物病毒的发现 在 1898 年, Friedrich Loeffler 和 Paul Frosch 发现患口蹄疫的动物淋巴液中含有能过滤器的感染性物质,由于经过了高度的稀释,排除了其为毒素的可能性,并认为该感染性物质能够自我复制,推论当时病因未明的天花、牛痘、猩红热、麻疹可能是由类似口蹄疫致病生物引起的。口蹄疫病原体是人类史上发现的第一个动物病毒。

3. 人类病毒的发现 黄热病自 15 世纪起在热带国家流行,死亡率很高,但很长一段时间,人们一直找不到其病原体。1900 年,由 Walter Reed 领导的美国黄热病委员会在古巴证实黄热病通过蚊子传播,该委员会的 James Carroll 将黄热病患者的血清经过稀释和过滤后,注射到三名志愿者体内,其中两名士兵均产生了明显的黄热病症状,而另一位平民志愿者虽然最初症状很轻,但在再次注射血清后的第二天即产生了明显的黄热病临床症状,该实验证明了黄热病病原体是可滤过性的病毒。因此,黄热病病毒是被证实的第一个人类病毒。

4. 噬菌体的发现 1915 年,英国细菌学家 Frederick W. Twort, 正担任伦敦布朗研究所所长,在研究中力图寻找用于天花疫苗的痘苗病毒的变异株,并研究变异株能否在活细胞以外的介质中复制,因此,在一项试验中将一部分天花疫苗接种含营养琼脂的平板,虽然未见病毒复制,但是细菌污染物在营养琼脂中生长很快,继续培养、观察,发现一些细菌菌落显示出“带水的样子”(即变得比较透明),特沃特将该现象称为透明转化(glassy transformation)。进一步研究发现:①受影响的菌落无法在任何介质中生长;②水样透明区无细菌检出;③纯细菌培养物在接触水样透明区后也会变得透明;④水样透明物质经过滤器后仍可以感染细菌;⑤水样透明物质可以在纯培养物中培养数代,因此,他认为存在一种细菌病毒,遗憾的是,受服役于第一次世界大战及资金缺乏的影响,特沃特的研究中断了。与此同时,加拿大医学细菌学家 Felixd Herelle 正在巴黎的巴斯德研究所工作,1915 年 8 月,法国的一个骑兵中队驻扎在巴黎的郊外,因志贺菌引发的痢疾对整个部队造成了毁灭性的打击,德赫雷尔对患者