

99
R373.1-33
1
2

流行性感冒病毒及其 实验技术

郭元吉 程小雯著



中国三峡出版社



3 0002 6039 2

图书在版编目(CIP)数据

流行性感冒病毒及其实验技术/郭元吉,程小雯著. —
北京:中国三峡出版社,1997
ISBN 7-80099-325-6

I. 流… II. ①郭… ②程… III. ①流行性感冒-病毒-
基本知识 ②流行性感冒-病毒-实验方法 IV. R511.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(97)第 18699 号

流行性感冒病毒及其实验技术

郭元吉 程小雯

中国三峡出版社出版发行

(北京市海淀区蔡公庄一号)

北京医科大学印刷厂印刷

787×1092 毫米 16 开本 印张:16.5 字数:398 千字

1997 年 11 月第 1 版 第 1 次印刷

定价:48.00 元

ISBN 7—80099—325—6/R·5

前 言

我国被世界公认为是流感的多发地,多发之谜已引起世界瞩目。愿这个流感病毒大流行株起源之谜能被我国流感病毒工作者所解开,为早日控制流感疾病的发生和流行做出自己应有的贡献。显然解开该谜需依靠科学和先进的技术。

我国自开展流感病毒研究工作以来,正式公开发行的流感专著,仅有于1958年由国家流感中心编写的《流行性感手册》,这本小册子受到了当时历史条件等因素的限制,显然已无法满足当今流感病毒研究的需求,甚至有些内容和看法已陈旧。故非常有必要出版一本具有中国特色的流感专著。

近来由于流感病毒生态学和分子生物学突飞猛进的发展,尤其后者,它不但揭开了流感病毒间内在的联系,揭示了流感病毒基因结构与功能之间的关系,澄清了许多模糊的认识,同时也导致了許多新技术的问世。

为跟上国际步伐,提高我国流感研究水平,推动我国流感病毒学的发展,抛砖引玉,并望能为我国教学、科研、临床和防疫工作者和学生提供一本值得参考的流感病毒专著,故将我们数十年在流感工作中所学到、看到、听到的及自己的体会撰写成本专著。本书最显著特色为:既考虑到全面性和系统性,又考虑到先进性和实用性。同时具有中国的特点,即尽量将我国在流感研究中所取得的成绩编写入内。

深感荣幸的是,本书原打算也为献给香港回归而写,经过努力终于在香港回归前夕写成。本书共48章,前11章为病原学部分,在每章后面均有主要参考文献,以备读者查考,而后37章为实验室技术部分,可供实验时参考和使用。

由于作者水平有限,错误之处实难避免,望各位同行能喜欢本书并批评指正。

郭元吉

中国预防医学科学院病毒学研究所

国家流感中心

一九九七年六月三十日于北京

内容提要

本专著含两部分内容。第一部分共 11 章,详细、系统、全面地介绍了流感病毒的概况和历史,分类与命名,理化和生物学特性,形态、结构和功能,复制,变异,发病机理和临床特征,免疫,流行病学,生态学和防治等方面的基础知识和基本概念,以及国内外在流感病毒研究中所取得的新进展。同时也包括了著者在长期流感病毒研究中的经验和体会。章后附有主要参考文献,以备读者参考。第二部分共 37 章,基本上包括了流感监测、诊断、教学和研究中全部的实验技术,尤其侧重介绍了实验的原理、操作要领和注意事项,同样也写入了作者的认识和体会。故本书基本上概括了国内外在流感病毒研究及所采用技术方面的新进展,反映了本世纪末流感病毒研究的新水平。它既是一本流感病毒基础理论参考书,也是一本工具书。本书可作为医学院校、农业院校、综合大学生物学科的教学参考书,也可作为从事病毒学、防疫、临床和科研工作者的参考书。

目 录

第一部分 流行性感冒病毒

第一章 概论及历史.....	(1)
第二章 流感病毒的分类与命名.....	(5)
一、概况	(5)
二、流感病毒的分类	(5)
三、流感病毒的命名	(6)
四、型与亚型的划分	(7)
五、代表性毒株	(7)
第三章 流感病毒的理化与生物学特性	(11)
一、概况.....	(11)
二、理化特性.....	(11)
三、生物学特征.....	(11)
第四章 流感病毒的形态、结构和功能.....	(16)
一、形态和结构.....	(16)
二、流感病毒基因及其产物.....	(16)
第五章 流感病毒的复制	(34)
一、概况.....	(34)
二、复制步骤.....	(34)
三、流产和无效复制.....	(38)
四、异常病毒复制和缺损病毒形成.....	(38)
五、干扰.....	(39)
第六章 流感病毒的变异	(41)
一、概况.....	(41)
二、致病性变异.....	(41)
三、相变异.....	(42)
四、抗原性变异.....	(42)
第七章 流感的发病机理和临床特征	(48)
一、发病机理.....	(48)
二、临床特征.....	(48)
三、不同人群对流感疾病的反映.....	(49)
四、基因因素对流感疾病的影响.....	(50)
五、病毒对流感疾病的影响.....	(50)
六、流感病毒感染中不多见的一些疾病.....	(50)
七、并发症.....	(52)
八、与流感易混淆的一些疾病.....	(53)
九、超额死亡率.....	(54)

第八章 流感的免疫	(56)
一、概况.....	(56)
二、流感免疫的特点.....	(56)
三、非特异性免疫.....	(56)
四、特异性免疫.....	(57)
五、个体免疫与感染和发病的关系.....	(60)
六、人群免疫与流行发生和发展的关系.....	(61)
第九章 流感的流行病学	(64)
一、概况.....	(64)
二、流行史.....	(64)
三、传染源.....	(65)
四、传播途径.....	(65)
五、人群易感性.....	(66)
六、影响流感流行的因素.....	(66)
七、散发、暴发、流行及大流行的含义.....	(68)
八、旧流行株为何在人群中消失.....	(68)
九、是否存在有流感流行中心.....	(68)
十、流感的分子流行病学.....	(68)
十一、流感实验室监测.....	(69)
第十章 流感病毒的生态学	(71)
一、概况.....	(71)
二、猪群中的流感病毒.....	(72)
三、马群中的流感病毒.....	(73)
四、禽中流感病毒.....	(74)
五、其它哺乳类动物中的流感病毒.....	(74)
六、流感病毒致病性的分子基础.....	(75)
第十一章 流感的防治	(77)
一、概况.....	(77)
二、流感病毒疫苗研究的现状.....	(77)
三、防治的药物.....	(83)
四、自我保护.....	(86)

第二部分 实验技术

第十二章 鸡胚培养法	(87)
一、概况.....	(87)
二、材料.....	(87)
三、鸡胚的结构与生理.....	(87)
四、接种技术.....	(88)
第十三章 动物接种法	(91)
一、概况.....	(91)
二、材料.....	(91)

三、接种途径.....	(91)
四、采血法.....	(92)
五、小鼠肺的采集及其悬液的制备.....	(93)
第十四章 组织培养法	(94)
一、概况.....	(94)
二、材料.....	(94)
三、组织培养技术.....	(95)
第十五章 空斑及空斑减少中和试验	(97)
一、概况.....	(97)
二、材料.....	(97)
三、操作步骤.....	(98)
四、感染倍数.....	(99)
第十六章 红细胞凝集及凝集抑制试验.....	(100)
一、概况	(100)
二、红细胞凝集试验	(100)
三、红细胞凝集抑制试验	(102)
第十七章 红细胞吸附及其抑制试验.....	(107)
一、概况	(107)
二、材料	(107)
三、操作步骤	(107)
第十八章 中和试验.....	(109)
一、概况	(109)
二、材料	(109)
三、操作步骤	(109)
第十九章 补体结合和间接补体结合试验.....	(120)
一、概况	(120)
二、材料	(121)
三、操作步骤	(122)
第二十章 对流免疫电泳技术.....	(129)
一、概况	(129)
二、材料	(129)
三、操作步骤	(130)
第二十一章 胎蛋白(Fetuin)底物提取法	(131)
一、概况	(131)
二、材料	(131)
三、提取步骤	(131)
第二十二章 流感病毒神经氨酸酶活性及其活性抑制试验.....	(133)
一、概况	(133)
二、材料	(133)
三、操作步骤	(134)

第二十三章 花生凝集素提取法.....	(137)
一、概况	(137)
二、材料	(137)
三、提取步骤	(137)
第二十四章 卵黄中抗流感病毒 IgG(IgY)的提取	(139)
一、概况	(139)
二、材料	(139)
三、提取步骤	(139)
第二十五章 凝集素神经氨酸酶活性(L-N)和凝集素神经氨酸酶活性抑制(L-NI)测定法	
.....	(141)
一、概况	(141)
二、材料	(141)
三、操作步骤	(141)
第二十六章 流感病毒的浓缩和纯化.....	(143)
一、概况	(143)
二、材料	(143)
三、具体方法与步骤	(143)
第二十七章 流感病毒单价抗原的获得及其免疫血清的制备.....	(145)
一、概况	(145)
二、材料	(145)
三、方法	(145)
第二十八章 琼脂免疫双扩散.....	(149)
一、概况	(149)
二、材料	(150)
三、实验步骤	(150)
第二十九章 单放射免疫扩散及火箭免疫电泳.....	(152)
一、概况	(152)
二、材料	(153)
三、实验步骤	(154)
第三十章 单放射免疫扩散溶血技术.....	(158)
一、概况	(158)
二、材料	(159)
三、实验步骤	(160)
四、注意事项	(161)
第三十一章 杂交瘤技术.....	(162)
一、概况	(162)
二、材料	(162)
三、操作步骤	(163)
第三十二章 酶联免疫吸附试验(ELISA).....	(167)
一、概况	(167)

二、ELISA 的主要组成部分	(167)
三、几种特殊的 ELISA	(171)
四、ELISA 在流感病毒快速诊断中的应用	(172)
第三十三章 免疫荧光技术	(174)
一、概况	(174)
二、材料	(174)
三、荧光抗体染色法	(175)
四、间接荧光抗体染色(IIF)在检测流感病毒中的应用	(176)
第三十四章 一种简便的受体破坏酶(RDE)试剂制备法	(177)
一、概况	(177)
二、材料	(177)
三、制备步骤	(177)
四、RDE 的质量鉴定	(177)
第三十五章 应用 Directigen 试剂盒快速诊断甲型流感病毒感染	(179)
一、概况	(179)
二、材料	(179)
三、实验程序	(179)
第三十六章 流感病毒感染小鼠肺重量测定法	(180)
一、概况	(180)
二、材料	(180)
三、实验步骤	(180)
第三十七章 流感病毒动物试验模型的快速建立法	(182)
一、概况	(182)
二、材料	(182)
三、实验步骤	(182)
第三十八章 流感病毒的分离与鉴定	(185)
一、概况	(185)
二、材料	(185)
三、实验步骤	(186)
第三十九章 流感的实验室诊断	(189)
一、概况	(189)
二、材料	(189)
三、方法与步骤	(189)
第四十章 流感病毒的传代与保存	(192)
一、概况	(192)
二、流感病毒的传代	(192)
三、流感病毒的保存	(193)
第四十一章 流感病毒 RNA 的提取法	(194)
一、概况	(194)
二、材料	(194)

三、方法与步骤	(195)
第四十二章 流感病毒核酸凝胶电泳.....	(199)
一、概况	(199)
二、材料	(201)
三、实验步骤	(202)
四、基因组单节段的分离	(205)
第四十三章 流感病毒基因组寡核苷酸图谱分析.....	(206)
一、概况	(206)
二、材料	(206)
三、实验步骤	(207)
第四十四章 流感病毒的核苷酸序列测定.....	(211)
一、概况	(211)
二、材料	(212)
三、方法与步骤	(212)
四、基因进化	(223)
第四十五章 流感病毒核酸斑点杂交(Dot blot)技术	(227)
一、概况	(227)
二、实验步骤	(227)
第四十六章 RT-PCR 限制性内切酶图谱分析	(234)
一、概况	(234)
二、具体例子	(234)
三、实验步骤	(238)
四、在流感病毒研究中的应用	(241)
五、该法的优缺点	(241)
第四十七章 流感病毒结构蛋白的凝胶电泳(PAGE)	(242)
一、概况	(242)
二、材料	(242)
三、实验步骤	(243)
第四十八章 一些常用溶液的配制.....	(245)
一、生理盐水的配制	(245)
二、75%酒精的配制	(245)
三、Alsever 氏液	(245)
四、钙镁盐水的配制	(245)
五、Versene 溶液的配制	(245)
六、10%蛋清盐水的制备	(245)
七、脱脂奶的制备	(245)
八、3%谷氨酰胺的配制.....	(246)
九、10%十二(烷)酰甲基甘氨酸钠试剂	(246)
十、Glycine(甘油)-sodium lauroyl sarcosinate(Glycine sarkosyl buffer)	(246)
十一、磷酸盐缓冲液(Phosphate buffered saline,PBS,pH7.2)	(246)

十二、Hank's 溶液.....	(246)
十三、5.6%NaHCO ₃ 的配制.....	(247)
十四、1%酚红溶液.....	(247)
十五、1:1 000 中性红溶液	(247)
十六、0.25%胰酶溶液的配制	(247)
十七、抗菌素的配制	(247)
十八、10 倍 Eagle's 母液的配备	(248)
十九、Eagle's 细胞生长液	(249)
二十、Eagle's 细胞维持液	(249)

第一部分 流行性感冒病毒

第一章 概论及历史

流行性感冒简称流感,是由甲(A)、乙(B)、丙(C)三型流感病毒分别引起的急性呼吸道传染病。甲、乙、丙不仅反映了病毒被发现的年代及前后顺序,更主要的是反映了对人类危害程度的顺序。甲型流感病毒常以流行形式出现,引起世界性流感大流行,它在动物中广泛分布,并也能在动物引起流感流行和造成大量动物死亡。乙型流感病毒常常引起流感局部暴发,不引起世界性流感大流行,至今尚未找到它存在于人之外的其它动物中的确凿证据。丙型流感病毒主要以散在形式出现,主要侵袭婴幼儿,一般不引起流感流行。过去一直认为人是丙型流感病毒唯一的天然宿主,但近年来这种看法已得到了彻底纠正,郭元吉等人于 1981~1982 年从我国猪群中分离出多株丙型流感病毒,并已得到了世界所公认。

流感的流行很早就被人们所认识,对它的流行情况也有不少记载。我国古代医书中早就有“疫”、“瘟病”、“时行病”、“时气”、“风寒”、“风热”、“伤风”、“感冒”及“时行感冒”等记载。这些记载中可能有些指的就是流感或包括流感在内。尤其“医方集介”中所提到的“时行流感”,这个名称与近代所用的“流行性感冒”十分相似。国外在这方面的记载比我国晚,直到公元前 412 年希腊的名医希波克拉第(Hippocrates)才有些记载。

流感(Influenza)这个术语,十五世纪初在意大利被用来描述一种流行病,这种流行病被认为是天上星星影响所造成的。这个术语到十八世纪时被英国所采用,同一时期法国人称它为 La grippe。但一般认为,对流感的主要特征有较准确的描述是在 1562 年,那时英国爱丁堡发生了一次流感流行,是一位英国人在信中叙述到的。而第一次较好记录流感的发生是在 1580 年,同时认为它首发于亚洲,而后蔓延到非洲和欧洲。

血清学追溯研究推断,1889 年和 1900 年曾分别发生过由 H2N8 和 H3N8 亚型流感病毒引起的流感流行。1918~1919 年曾发生过一次世界性流感大流行,造成两千多万人死亡,比第一次世界大战战亡的总人数还多,而且死亡的绝大多数为青壮年。由于这次流行最早公开发布的是西班牙,所以将这次流感称之为“西班牙流感”。其实这次首发地并不在西班牙,而是在美国中部堪萨斯州(Kansas)兵营中,然后由美军士兵带到欧洲战场,即接近法国的国土上,当时同盟军和德军双方为了作战的需要,都把疫情保密了下来,而西班牙当时处于中立国,所以发布了这次流行。近来,有些人认为,这次世界性大流行首发地在中国,但缺乏证据。而后,经血清学追溯研究认为,这次流行的病原为猪型(H1N1)流感病毒,所以有时把这次流感称之为“猪型流感”。又由于这次大流行发生于 1918~1919 年,所以有时也称之为“1918 型流感”。

至于流感病因,人们曾进行过许多推测,最早认为是由于天上星星影响而引起的,接着又认为是气候造成的,而后又推想是从沼泽地来的毒气所造成的。直到 1894 年,一位著名的英国流行病学家 Charles Creighton 还认为流感是不传染的。到了十九世纪末,传染病是由细菌引起的说法取得了肯定的依据,在许多流感患者的咽喉部发现了一种杆菌,名叫溶血性流感杆菌(Haemophilus influenzae),也叫做 Pfeiffer's 流感杆菌(Pfeiffer's influenza bacillus)。这样就造成了好几年都认为:引起流感的病原是溶血性流感杆菌。而真正发现病毒病因的是在二十世纪初。

1928 年美国人 C. N. McBryde 等人成功地用病猪呼吸道未经过滤的粘液感染猪获得成功,但用过滤的材料感染未能获得成功。另一位美国人 R. E. Shope 将这项工作继续下去,于 1930 年成功地用过滤液感染雪貂,分离出了猪流感病毒。Shope 的工作很快被英国人知道,Smith 等人参照 Shope 的方法,于 1933 年用病人咽喉部洗液的过滤液,鼻腔感染雪貂获得成功。于 1936 年将动物传代病毒感染人,证实了病毒的存在。Smith 等人于 1933 年首次将从人体中所分离到的流感病毒称之为甲型流感病毒。

近来,由于加强了动物流感病毒的研究,发现了真正最早分离到的甲型流感病毒是于 1900 年从鸡中分离到的真性鸡瘟病毒(Fowl plague virus,简称 FPV)。

1940 年 Francis 和 Magill 分别发现了与甲型流感病毒抗原性完全不同的新流感病毒,称之为乙型流感病毒。

1947 年 Taylor 发现了丙型流感病毒,这种病毒与甲、乙型流感病毒抗原无任何交叉反应。

关于人流感起源问题,至今尚未弄清,但近来事实表明,流感是一种具有极强传染性、带有短潜伏期的短命的传染病。流感病毒基因具有严格的宿主特异性,即在一般情况下,禽与人流感病毒不能直接相互传播。因此,流感病毒在人群中能长期连续地生存下去,只能通过人传人,也就是说必须依赖于人传人的连续链。再从历史记载来看,到十九世纪后期,流感的大暴发机率才明显增加。故有人认为,流感病毒在人群中的进化不早于人群社会化活动的开始,它是随着工业革命、全球人口密度增加、都市化及拥挤出现而来。

人流感病毒自发现以来,曾出现过三个亚型,即:1957 年 2 月首发于我国贵州西部的甲 2 (H2N2)亚型流感病毒,它也被称之为亚洲流感病毒;1968 年 7 月首发于我国香港特区的甲 3 (H3N2)亚型流感病毒(也称香港流感病毒)。其实根据调查,我国内地如上海与广东,H3N2 毒株所出现的时间要比香港特区更早一些;1977 年 5 月首先重现于我国辽宁地区的甲 1(H1N1)亚型毒株,有时也被称之为苏联流感病毒,因原苏联首先向世界卫生组织(WHO)报告了 H1N1 亚型毒株的重现,我国虽然比原苏联早半年就已发现,但未向全世界公布。

奇怪的是,近来研究表明,不仅上述三个亚型毒株均首发于我国,而且自 1968 年以来,绝大多数流感病毒的新变种也首发于我国。故我国被全世界公认为是流感的多发地,甚至发源地。为何我国是流感的多发地?其原因至今不清楚。

流感为第一个实行全球性监测的传染病。1947 年 7 月在丹麦首都哥本哈根(Copenhagen)召开国际微生物学会议时,一组出席会议的专家就建议成立国际流感中心,其目的为:收集和分发流感信息,协调实验室工作及培训实验室工作人员。当时英国国立医学研究所(The National Institute for Medical Research)愿意承担国际流感中心工作。从此,国际性流感监测工作起步,换句话说它比 WHO 成立还早一年。国际流感中心成立至今已有 50 年的历史,目前全世界已有 80 个国家 110 个实验室参加了 WHO 组织的国际性流感监测网。目前,国际上有四个 WHO 流感参照和研究协作中心:一个是上面提到的英国国立医学研究所,第二个设在美国疾病控制中心内,第三个设在澳大利亚墨尔本的原联邦血清实验室内,最后一个设在日本公共卫生研究院。

我国开展流感病毒研究工作始于 1950 年。国家流感中心成立于 1957 年。随着我国在联合国和 WHO 合法权利的恢复,于 1980 年我国流感中心也恢复参加了 WHO 组织的国际性流感监测网。现将个人认为在流感病毒研究中的一些重要发现列于表 1-1。

表 1-1 流感病毒研究过程中的一些新发现

年	发 现
1900	真性鸡瘟病毒(FPV)
1930	猪型(H1N1)流感病毒
1933	人甲型流感病毒
1934	人和猪流感病毒适应到实验小鼠
1936	流感病毒对人进行实验性皮下接种
1936	鸡胚培养人流感病毒获得成功
1937	不同人流感病毒株间存在抗原性差异
1938	首次对志愿者进行鼻腔内接种流感病毒
1939	建立甲型流感病毒 WS 嗜神经株
1940	乙型流感病毒
1941	流感病毒能引起红细胞凝集
1942	依据红细胞凝集对流感病毒及其抗体进行定量测定
1942	两株流感病毒间会发生相互干扰
1944	首次流感病毒灭活疫苗试用获得成功
1947	丙型流感病毒
1949	两株流感病毒间会发生基因重配
1951	不完全病毒颗粒(Von magnus particle)
1955	血清学试验证实 FPV 是甲型流感病毒
1956	马 1(H7N7)亚型流感病毒
1957	干扰素
1957	甲 2(H2N2)亚型大流行株出现
1963	马 2(H3N8)亚型流感病毒
1963	应用盐酸金刚烷胺在人体预防流感获得成功
1968	甲 3(H3N2)亚型流感病毒出现
1969	病毒株基因重配技术应用到流感病毒疫苗株选育
1970	甲 3(H3N2)亚型毒株可由人传到猪
1974	在我国首次从病马中分离出马 1(H7N7)亚型流感病毒
1976	甲型流感病毒 RNA 含 8 个不同的基因节段
1977	甲 1(H1N1)亚型流感病毒在人群中重现
1981	猪丙型流感病毒
1981	A/Hong Kong/1/68 毒株血凝素三维结构
1983	甲型流感病毒神经氨酸酶的三维结构
1989	在我国病马中分离出 8 个基因节段类似于禽流感病毒的 马 2(H3N8)亚型流感病毒
1990	在我国猪群中首次分离出猪型(H1N1)流感病毒
1993	在我国病马中首次分离出马 2(H3N8)亚型流感病毒
1996	“O”相毒株重现及甲 3(H3N2)亚型毒株首次出现“O”相特性

流感对人、禽和畜的危害已越来越引起人们的普遍重视,欧美和日本等一些发达国家将流感的研究一直列为重点研究项目之一。多年来欧美资料表明,每次流感流行后,总要造成人群中不同程度的超额死亡和带来巨大的经济损失。我国由于流感流行,影响工农业生产、学生上课、交通中断和医院病人暴增亦屡见不鲜。随着我国国民经济的飞速发展,人民生活水平的不断提高,科学的普及和人口老龄化问题的出现,流感在我国定会越来越被重视。近来随着畜牧

和养禽业的发展,流感对两业的危害性在我国也显示了出来。如1989年春,我国黑龙江和吉林两省马群中发生了禽流感病毒(H3N8)引起的流感流行,造成数万匹马得病,数百匹马死亡。又如1993~1994年我国华北、东北、西北和西南马群中相继出现了马2(H3N8)亚型流感病毒引起的流感流行,造成上百万匹马属动物发病,数万匹死亡,给经济带来了巨大损失。近来,我国鸡群中流感病毒活动也相当猖獗,故我国农业部已将禽流感列为甲类监测传染病。

主要参考文献

- 1 Shope R E. Swine influenza 111. Filtration experiments and etiology. J Exp Med, 1931,54:373.
- 2 Smith W, et al. A virus obtained from influenza patients. Lancet, 1933,ii:66.
- 3 Magill T P. A virus cases of influenza-like upper respiratory infection. Proceedings of the Society of Experimental Biological Medicine(New York), 1940,45:162.
- 4 Taylor R M. Studies on survival of influenza virus between epidemics and antigenic variants of the virus. American J Public Health, 1949,39:171.
- 5 Kuo Y J, et al. Isolation of influenza C virus from pigs and experimental infection of pigs with influenza C virus. J Gen Virol, 1983,64:177.
- 6 全国流行性感冒中心研究室. 流行性感冒手册. 北京:人民卫生出版社. 1958.
- 7 Guo Y J, et al. Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. Virology, 1992,188:245.

第二章 流感病毒的分类与命名

一、概况

病毒的分类进展缓慢,并常常有争异。病毒的名称往往凭发现者的一时即兴而命名。有用地名命名的,如柯萨奇病毒(Coxsackievirus)就是用地名命名的,因 Coxsackievirus B1 是在纽约柯萨奇农村分离到;人名(包括发明者或病人),如 G 型肝炎,就是用患者名字的第一个字母而命名;宿主来源,如真性鸡瘟病毒(FPV);用疾病名称,如脑炎病毒等。而这些名称中相当一部分至今仍普遍应用。

一般来讲,传染性疾病的名称应简明地反映出它最易识别的临床症状,如肝炎(Hepatitis)、脑炎(Encephalitis)等,或病毒主要侵害部位,如脊髓灰质炎病毒(Poliovirus)。而流感有些例外,从资料来看,它的名称很多:La grippe, Grip, Febrile catarrh(热卡他), Catarrhal fever(卡他热),Acute nasopharyngitis(急性鼻咽炎),最后才称之为 Epidemic influenza(流行性感胃)。故估计流感(Influenza)这个名称不是病毒分类学家或科学家给的,而是 18 世纪中流感患者给的。

尽管病毒学分类至今还很不完善,但较一致认为,病毒分类主要应依据病毒的结构和复制方式。如它的核酸是 RNA 还是 DNA,是单链还是双链,是负链还是正链,基因组是分节段还是不分节段等等。

二、流感病毒的分类

流感病毒在病毒分类学上属正粘病毒科(Orthomyxoviridae)。Ortho 是希腊语,其含义为正直或正确,myxo 同样是希腊语,其含义为粘液(mucous),也就是说,流感病毒的分类基本上是按旧的名称而来。

粘病毒这个名称是 Andrewes 等人于 1955 年首先提出的。该名称的含义是指对粘蛋白具有特殊亲和性的一组 RNA 病毒。它们包括流感病毒、副流感病毒、腮腺炎病毒和新城鸡瘟病毒(NDV)等,后来随着病毒分子生物学突飞猛进的发展,从而加深了人们对病毒本质的了解,发现了在粘病毒中有两大类,虽然它们在形态上都相似,但在许多重要特性上(尤其病毒核酸特性和复制方面)彼此间显然不同。为把它们区别开,所以将粘病毒分成正粘和副粘病毒两大科,它们间主要差异见表 2-1。

表 2-1 正粘与副粘病毒间主要特性的比较

主要特性	正粘病毒	副粘病毒
病毒粒大小	80~120nm	150~220nm
核壳体直径	9nm	18nm
RNA 分子重量	$4\sim5\times10^6$	7.5×10^6
丝状体	+	-
溶血	+(仅在 pH5.0 左右)	+(除 RSV 外)
嗜伊红细胞浆包涵体	-	+
基因重配	+	-
多重复活	+	-
不完全病毒粒形成	+	-
复制时需要宿主细胞功能性的 DNA	+	-

正粘病毒科的通俗名称为流感病毒群,它的成员包括甲、乙、丙三型流感病毒。但近来有人主张把丙型流感病毒另列一个属(Genus),因它的毒粒结构、生物学特性和流行病学特点均与甲、乙型流感病毒有差异。流感病毒的详细分类见表 2-2。

表 2-2 流感病毒的分类

分类状况	分类学名称	通俗名称	病毒粒表面抗原
科(Family)	正粘病毒科	流感病毒群	
属(Genus)	流感病毒	流感病毒	
型(Type)	甲(A)	甲(A)型流感病毒	
亚型(Subtype)(人的)			H1N1 H2N2 H3N2
株(Strain),例如		A/京科/1/68(H3N2) A/马/黑龙江/1/89(H3N8)	
型(Type)	乙(B)	乙(B)型流感病毒	
亚型(Subtype)	无		
株(Strain),例如		B/京防/184/93	
型	丙(C)*		
亚型	无		
株,例如		C/paris/1/67 C/猪/京科/32/81	

* 有人提议,C 应为正粘病毒科中另一个属。

本科成员具有以下共同特征:病毒颗粒多形态或球形,直径 80~120nm,丝状体可长达数 μm ;含囊膜,膜上覆盖着突起,一种像三角形、细长的、能凝集红细胞的称血凝素(H),另一种像磨菇样、能使病毒颗粒从吸附的红细胞表面释放下来的叫神经氨酸酶(N),而丙型流感病毒缺乏 N。还有 M2 蛋白,过去把 M2 误认为是病毒颗粒的非结构蛋白;H 和 N 两种蛋白的抗原性易发生变异;病毒粒复制时,需要宿主细胞核功能;在 pH5.0 左右的溶液中能使红细胞溶解;病毒粒基因组为分节段的单链、负链 RNA;所有 RNA 节段的 5' 末端最初 13 个核苷酸序列均为 AGUAGAAACAAGG,3' 末端的最初 12 个核苷酸序列均为 UCGUUUUCGUCC;同型病毒颗粒相应基因节段间易发生重配(Reassortment);病毒粒在 pH 低于 5.0 或 56℃ 加热数分钟,感染性下降;脂溶剂和去污剂能破坏病毒颗粒完整的膜,导致感染性下降甚至消失;用甲醛、紫外线和 γ 射线等处理也能使病毒颗粒的感染性消失,但不影响抗原的特异性;有些化学药物和射线能造成病毒颗粒某节段 RNA 的缺损。

三、流感病毒的命名

1980 年 WHO 公布了流感病毒新的统一命名法。这个命名法与过去的有些不同。它不考虑宿主的因素,即所有甲型流感病毒不论是人的还是动物的均进行统一的亚型划分,其次亚型划分的依据不是根据血凝抑制、中和试验及神经氨酸酶抑制测定的结果,而是根据基因分析和琼脂免疫双扩散的结果。

甲型流感病毒命名法可用下列公式表示之:型别/宿主/分离地点/毒株序号(指采样时标本号)/分离年代(血凝素亚型神经氨酸酶亚型),如 A/马/黑龙江/1/89(H3N8),但写宿主时须