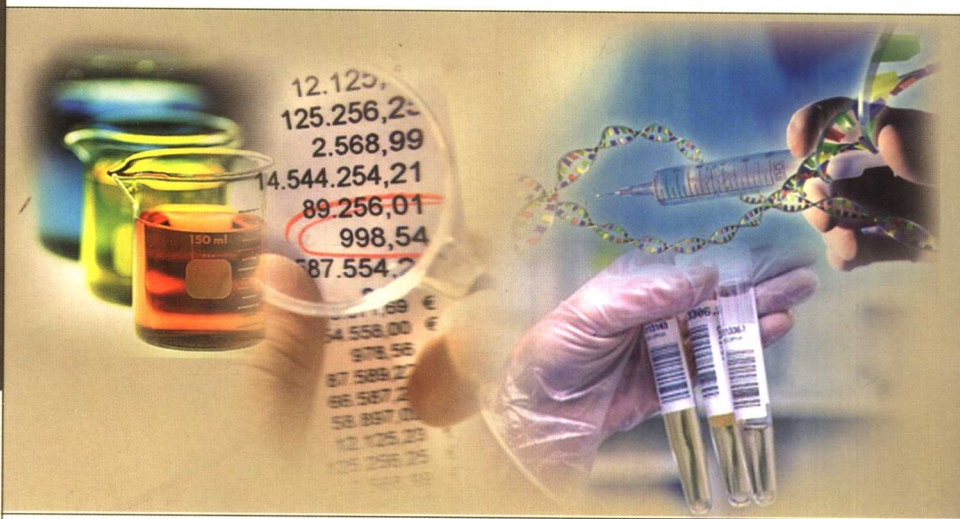


供卫生检验类专业用

全国高等医药教材建设研究会·卫生部规划教材
全国高等学校教材

病毒学检验

主 编 李洪源
王志玉
副主编 裴晓方



全国高等医药教材建设研究会·卫生部规划教材

全国高等学校教材

供卫生检验类专业用

病毒学检验

主 编 李洪源 王志玉

副主编 裴晓方

编 委 (以姓氏笔画为序)

王志玉 (山东大学医学院)	陆家海 (中山大学医学院)
王友洁 (华中科技大学同济医学院)	封少龙 (南华大学医学院)
王素萍 (山西医科大学)	姚振江 (哈尔滨医科大学)
王明丽 (安徽医科大学)	姚 苹 (山东大学医学院)
王德全 (广东药学院)	喻荣彬 (南京医科大学)
马淑一 (内蒙古科技大学)	甄 清 (吉林大学白求恩医学部)
李洪源 (哈尔滨医科大学)	裴晓方 (四川大学华西医学中心)
陈 廷 (济宁医学院)	

秘 书 李 鑫 (哈尔滨医科大学)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

病毒学检验/李洪源等主编. —北京:

人民卫生出版社, 2006. 7

ISBN 7-117-07800-6

I. 病… II. 李… III. 病毒学—医学检验
IV. R446

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 070873 号

本书本印次封底贴有防伪标。请注意识别。

病毒学检验

主 编: 李洪源 王志玉

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 850×1168 1/16 印张: 24.5

字 数: 619 千字

版 次: 2006 年 7 月第 1 版 2006 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-07800-6/R·7801

定 价: 36.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

全国高等学校卫生检验专业规划教材

出版说明

为了进一步促进卫生检验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和卫生部教材办公室于2005年开始组织编写了国内第一套供卫生检验专业使用的规划教材。

该套教材由国内近20所开办卫生检验专业的医药卫生院校的一线专家参加编写,在编写过程中紧紧围绕该专业的培养目标;注重教材编写的“三基”(基本理论、基本知识、基本技能)、“五性”(思想性、科学性、先进性、启发性、适用性);强调卫生检验专业与预防医学专业及临床检验专业等相关教材的区别与联系;注重整套教材的整体优化与互补,旨在培养具备预防医学基本理论知识和卫生检验技能,能在疾病控制中心、环境卫生或食品卫生监测等机构工作的高级卫生检验人才。

该套教材共有10种,于2006年7月全部出版。

全国高等学校卫生检验专业规划教材

编写委员会

主任委员: 陈学敏 (华中科技大学)

副主任委员: 张朝武 (四川大学)

委 员: 周宜开 (华中科技大学)

孙成均 (四川大学)

邹学贤 (昆明医学院)

陈大义 (四川省卫生管理
干部培训学院)

冀元棠 (安徽医科大学)

毋福海 (广东药学院)

王 充 (中山大学)

孙长颢 (哈尔滨医科大学)

和彦苓 (内蒙古科技大学)

康维钧 (河北医科大学)

代兴碧 (重庆医科大学)

黎明兰 (吉林大学)

王志玉 (山东大学)

刘桂芬 (山西医科大学)

茅 力 (南京医科大学)

陈 廷 (济宁医学院)

邓学良 (南华大学)

全国高等学校卫生检验专业规划教材目录

1. 《食品理化检验》
主 编：黎源倩
副主编：孙长颢 叶蔚云 代兴碧
2. 《生物材料检验》
主 编：孙成均
副主编：冀元棠 王爱国
3. 《免疫学检验》
主 编：徐顺清 刘衡川
副主编：黎明兰 宋 宏
4. 《分析化学》
主 编：邹学贤
副主编：赵云斌 高希宝
5. 《病毒学检验》
主 编：李洪源 王志玉
副主编：裴晓方
6. 《细菌学检验》
主 编：张朝武
副主编：唐 非 黄升海
7. 《水质理化检验》
主 编：张克荣
副主编：康维钧 张翼翔
8. 《空气理化检验》
主 编：吕昌银 毋福海
副主编：杜晓燕 刘 萍
9. 《临床与职业卫生检验》
主 编：牛 侨
副主编：吴永会 陈 锋 张春芝
10. 《卫生检验检疫》
主 编：周宜开
副主编：张德纯 苏 虹

前 言

进入 21 世纪后,病毒性疾病的流行依然是威胁人类健康的主要公共卫生问题。面对控制病毒性传染病突发公共卫生事件的形势和任务,我国正在建设崭新的公共卫生体系。为了适应 21 世纪公共卫生人才需求,2004 年 12 月,全国高等学校卫生检验专业规划教材编写论证会确定编写卫生检验专业规划教材《病毒学检验》。

《病毒学检验》是卫生检验专业主要的必修课程。该课程讲授病毒学检验的基本原理、基本技术、基本检验技能以及病毒学检验的新进展。通过合理的理论课和实验课教学实践,使学生掌握病毒学检验的基本理论、基本方法和实验操作技能,以便培养学生发现问题、分析问题和解决问题的能力。为达到上述教学目的,本次编写的《病毒学检验》主要包括三部分内容:第一部分为病毒学检验技术,第二部分为病毒学检验各论,第三部分为病毒学检验实习指导。在病毒学检验技术中,重点论述病毒学检验方法的基本原理、基本方法、检验步骤和实验的质量控制。在病毒学检验各论中,对我国居民健康危害较大的病毒性疾病,从病毒的生物学特点、病毒分离培养、病毒感染的检测方法、临床表现、流行病学以及预防和治疗等方面进行了较全面介绍。在病毒学检验实习指导中,以常规的病毒学检验技术为重点,编写了实习提纲。

鉴于我国的传染病预防与控制工作的实际情况,本教材在编写过程中注意到病毒学检验技术的实用性、规范性和可靠性,尽量使编写内容切合病毒性疾病控制工作和临床病毒学检验工作的实际情况。因此,本教材除了作为卫生检验专业本科生教材以外,还可作为病毒学检验工作的培训教材,同时也是公共卫生医师、临床医师和科研工作者的有益参考书。

我们集全国卫生检验专业同仁的智慧编写了本教材。尽管我们倾尽全力,但是由于编写时间和学识水平有限,书中内容不当或错误之处在所难免,真诚希望同行专家、使用本教材的师生和读者提出批评和指正,以便再版时修改。

李洪源 王志玉

2006 年 2 月

目 录

绪论	1
一、病毒学和病毒学检验的发展史	1
二、病毒学检验的内容及其应用范围	5
三、病毒学检验的一般原则	8
四、病毒学检验的质量控制	10
五、病毒学实验室的生物安全管理	11

第一篇 病毒学检验技术

第一章 细胞培养技术	13
第一节 细胞培养技术在病毒学研究中的发展	13
第二节 细胞培养概述	14
一、体外培养细胞的生物学特性	14
二、组织细胞培养种类	17
三、细胞系的建立、保存和鉴定	18
四、用于病毒培养的细胞选择	19
第三节 细胞培养技术	20
一、细胞培养的基本设施与条件	20
二、无菌操作技术和细胞检查技术	23
三、原代细胞制备过程	24
四、传代细胞制备及培养技术	26
五、细胞的冻存、复苏及运输	27
第四节 细胞培养污染与监测	28
一、污染来源	28
二、微生物污染与监测	29
三、细胞间交叉污染与监测	30
四、细胞污染防治措施	30
第五节 细胞培养技术在病毒学检验中的应用	30
一、分离培养病毒	31
二、病毒性疾病的血清学诊断	32
三、肿瘤病毒致癌机制研究	32
四、药物体外抗病毒试验	32
第二章 鸡胚接种技术	33

• 2 • 目 录

第一节 鸡胚的结构与生理	33
第二节 鸡胚的孵育和检查.....	34
一、受精鸡卵的供给	34
二、鸡胚的孵育	34
三、检卵	35
第三节 鸡胚的接种途径及方法	35
一、实验材料与器械	35
二、接种途径与方法	35
三、注意事项	38
第四节 病毒的检测	38
一、无菌试验	38
二、检测方法	39
第五节 鸡胚接种技术的应用	39
一、人类与动物病毒的培养、分离与鉴定	39
二、疫苗的研制	40
第三章 动物实验技术	41
第一节 实验动物的种类与基本操作方法.....	41
一、实验动物的种类	41
二、常用实验动物	42
三、实验动物常用基本操作技术	42
四、使用实验动物的基本原则	46
第二节 动物实验在病毒检验中的应用.....	46
一、动物实验在病毒分离中的应用	46
二、动物实验在病毒鉴定中的应用	47
三、动物实验在病毒性疾病研究中的应用	47
四、动物实验在抗病毒药物和病毒疫苗效果及安全性检测中的应用	47
第三节 病毒学检验中动物实验的基本步骤	47
第四节 病毒学动物实验应注意的问题.....	49
一、病毒学动物实验的安全问题	49
二、实验动物自发性病毒感染对实验结果的影响	49
第四章 病毒滴度的测定	50
第一节 空斑形成单位法测定病毒滴度.....	50
一、基本原理	50
二、方法与步骤	50
三、空斑形成单位法测定病毒滴度的计算	52
四、注意事项	53
第二节 50%终点法测定病毒滴度	54

一、基本原理	54
二、方法与步骤	54
三、50%终点法的计算	55
四、注意事项	56
第三节 血凝试验和干扰滴定测定病毒滴度	57
一、血凝试验的基本原理	57
二、干扰滴定的基本原理	57
第五章 病毒的纯化和保存	58
第一节 病毒的纯化	58
一、病毒纯化的一般原则	58
二、病毒纯化的方法	58
第二节 病毒蛋白的分离与鉴定	61
一、SDS-PAGE	61
二、Western Blot	63
第三节 病毒的保存	64
一、低温及超低温保存法	64
二、冷冻干燥保存	64
三、注意事项	65
第六章 病毒血清学实验方法	66
第一节 中和试验	66
一、基本原理	66
二、方法与步骤	67
三、注意事项	70
第二节 补体结合试验	70
一、基本原理	70
二、方法与步骤	70
三、注意事项	73
第三节 血凝试验及血凝抑制试验	74
一、血凝试验及血凝抑制试验的基本原理	75
二、血凝试验	75
三、血凝抑制试验	76
四、注意事项	78
第七章 现代免疫学试验技术	79
第一节 免疫荧光试验	79
一、基本原理	79
二、实验类型	79

• 4 • 目 录

三、方法和步骤	79
四、注意事项	82
第二节 酶联免疫吸附试验	83
一、基本原理	83
二、实验类型	83
三、方法和步骤	84
四、注意事项	85
第三节 免疫酶染色试验	86
一、基本原理	86
二、实验类型	86
三、方法和步骤	86
四、注意事项	89
第四节 放射免疫试验	89
一、基本原理	89
二、实验类型	90
三、方法和步骤	91
四、注意事项	92
第八章 核酸杂交技术	93
第一节 基本原理	93
一、核酸的结构与特性	93
二、核酸的杂交	94
三、核酸杂交的方法	94
第二节 核酸探针的制备	95
一、核酸探针的种类	95
二、核酸探针的标记和检测	96
第三节 Southern 印迹杂交	98
一、待测核酸样品的制备与限制酶消化	99
二、琼脂糖凝胶电泳分离待测 DNA 样品	99
三、电泳凝胶的预处理	99
四、转膜	99
五、探针标记	100
六、预杂交与 Southern 杂交	100
七、洗膜	100
八、放射性自显影检测	101
第四节 Northern 印迹杂交	101
一、RNA 的提取	101
二、电泳分离	101
三、转移和紫外线交联	102

四、杂交与结果检测	102
第五节 其他核酸杂交技术	103
一、斑点杂交	103
二、原位杂交	103
三、分支链 DNA	104
四、液相杂交技术	104
第九章 聚合酶链反应	106
第一节 基本原理	106
第二节 PCR 的技术路线	108
第三节 PCR 的反应体系及其优化	108
一、模板	108
二、引物	109
三、耐热 DNA 聚合酶	110
四、三磷酸脱氧核苷酸	111
五、反应缓冲系统	112
六、二价阳离子 Mg^{2+}	112
第四节 PCR 反应条件的优化	112
一、温度循环参数	112
二、PCR 反应促进剂	114
三、液状石蜡	114
四、反应体系中各因素的相互作用	114
第五节 PCR 扩增产物的分析鉴定	114
一、琼脂糖凝胶电泳	114
二、聚丙烯酰胺凝胶电泳	115
第六节 几种常用的 PCR 技术	115
一、原位 PCR	115
二、反转录 PCR	116
三、巢式 PCR	116
四、免疫 PCR	117
五、实时荧光定量 PCR	117
第七节 感染标本中病毒核酸的提取	118
一、全血细胞中病毒 DNA 的提取	118
二、培养细胞中病毒 DNA 的提取	118
三、新鲜或冷冻组织中病毒 DNA 的提取	119
四、拭子标本中病毒 DNA 的提取	119
第十章 基因克隆技术	120
第一节 基本原理	120

• 6 • 目 录

一、DNA 的特异性切割	120
二、基因克隆的载体	121
三、DNA 片段的连接	125
四、基因克隆的宿主	125
第二节 基本步骤	126
一、目的基因的获得	126
二、载体的准备	129
三、连接	130
四、外源 DNA 导入宿主细胞	130
五、重组体的筛选和鉴定	131
第三节 基因克隆的应用	133
第十一章 基因芯片技术	134
第一节 基因芯片概述	134
一、基因芯片的概念	134
二、基因芯片技术的原理	135
第二节 基因芯片技术的基本步骤	135
一、载体选择	135
二、芯片制备	136
三、样品准备	136
四、基因芯片杂交	136
五、杂交信号检测	137
六、检测结果分析	138
第三节 基因芯片技术的应用	139
一、基因表达水平与功能研究	139
二、疾病诊断	139
三、药物筛选	139
四、指导临床治疗	140
第十二章 DNA 序列测定	141
第一节 DNA 序列测定的原理和技术	141
一、DNA 测序原理	141
二、DNA 测序策略	143
第二节 全自动 DNA 测序	144
一、自动激光荧光 DNA 测序系统的工作原理	145
二、Pyrosequencing 自动测序原理	145
第三节 DNA 测序程序	145
一、测序模板的准备	145
二、测序反应	146

第十三章 电子显微镜技术	148
第一节 电子显微镜的构造与原理	148
一、显微镜的分辨极限	148
二、透射电镜的基本结构	149
三、扫描电镜的构造与成像原理	151
第二节 电镜标本制备方法	152
一、透射电镜标本制备方法	152
二、扫描电镜生物标本制备方法	156
第三节 免疫电镜技术	156
一、病毒颗粒免疫电镜技术（液相免疫电镜法）	157
二、酶标记免疫电镜技术	157
三、胶体金标记免疫电镜技术	158
第四节 其他免疫电镜技术	158
一、冷冻超薄切片免疫电镜技术	158
二、扫描免疫电镜技术	158
三、冷冻蚀刻免疫电镜技术	158
四、原位核酸杂交电镜技术	159
第五节 电镜技术在病毒检测中的应用	159
一、皮肤病损	159
二、鼻咽分泌物	159
三、血清及脑脊髓液	159
四、尿	160
五、粪便	160
六、组织	160
七、细胞培养物	160
第十四章 病毒分离与鉴定	161
第一节 标本的采集和处理	161
一、标本的采集	161
二、标本的运送与储存	161
三、标本的处理	162
第二节 病毒的分离	163
一、组织培养法	163
二、鸡胚接种法	164
三、动物接种法	165
第三节 病毒的鉴定	167
一、初步鉴定	167
二、最终鉴定	169

第十五章 病毒感染的早期诊断技术	175
第一节 IgM 检测	175
一、ELISA 法.....	176
二、免疫荧光法.....	176
第二节 病毒特异成分的检测	177
一、核酸成分的检测.....	177
二、检测感染材料中病毒抗原成分.....	178
三、感染细胞中特征性包涵体的检测.....	179
第三节 电镜或免疫电镜技术	180

第二篇 病毒学检验各论

第十六章 痘病毒及其检验	183
第一节 痘病毒生物学特性	183
一、病毒形态与大小.....	183
二、病毒结构.....	184
三、病毒分型.....	184
四、病毒理化特性.....	184
第二节 临床表现	185
一、天花.....	185
二、猴痘.....	185
第三节 流行病学特征	185
一、天花.....	185
二、猴痘.....	186
第四节 实验室检验	186
一、标本的采集与处理.....	186
二、病毒的分离培养.....	186
三、抗猴痘病毒血清的制备.....	187
四、实验室诊断方法.....	187
第五节 预防与治疗	189
一、预防.....	189
二、治疗.....	189
第十七章 疱疹病毒及其检验	190
第一节 病毒的生物学特性	190
一、形态与大小.....	190
二、病毒结构.....	190
三、病毒理化特性.....	191
第二节 临床表现	192
一、单纯疱疹病毒.....	192

二、水痘-带状疱疹病毒	192
三、人巨细胞病毒	193
四、EB 病毒	193
第三节 病毒的流行病学特征	193
一、单纯疱疹病毒	193
二、水痘-带状疱疹病毒	194
三、人巨细胞病毒	194
四、EB 病毒	195
第四节 实验室检验	195
一、样品的采集与处理	195
二、病毒的分离培养	196
三、实验室诊断方法	197
四、实验室诊断标准	198
第五节 预防与治疗	199
一、单纯疱疹病毒	199
二、水痘-带状疱疹病毒	199
三、人巨细胞病毒	200
四、EB 病毒	200
第十八章 乳头瘤病毒及其检验	201
第一节 病毒生物学特性	201
一、形态与大小	201
二、病毒结构	201
第二节 临床表现	202
第三节 流行病学特征	203
一、传染源和传播途径	203
二、流行病学概况	203
第四节 实验室检验	203
一、醋酸白试验	204
二、细胞学检查	204
三、组织病理学检查	204
四、免疫学试验	204
五、核酸杂交试验	204
第五节 预防与治疗	204
一、预防	204
二、治疗	205
第十九章 嗜肝 DNA 病毒及其检验	206
第一节 病毒生物学特性	206

• 10 • 目 录

一、病毒形态与大小	206
二、病毒结构	207
三、病毒分型与变异	208
四、病毒理化特性	209
第二节 临床表现	209
第三节 流行病学特征	210
一、地区分布	210
二、人群分布	210
三、流行过程	210
第四节 实验室检验	210
一、样品的采集	210
二、病毒的分离培养	211
三、实验室诊断方法	212
四、实验室诊断标准	214
第五节 预防与治疗	214
一、预防	214
二、治疗	215
第六节 乙型肝炎与丁型肝炎重叠感染	215
第二十章 逆转录病毒及其检验	217
第一节 病毒生物学特性	217
一、病毒形态与大小	217
二、病毒结构	218
三、病毒分型与变异	220
四、病毒理化特性	221
第二节 临床表现	221
第三节 流行病学特征	222
一、艾滋病流行病学特征	222
二、HIV 传播与危险因素	222
第四节 HIV-1 的实验室检验	223
一、样品的采集与处理	223
二、病毒的分离培养	223
三、实验室诊断方法	225
第五节 预防与治疗	228
一、预防	228
二、治疗	228
第二十一章 呼肠孤病毒及其检验	230
第一节 病毒生物学性状	230

一、形态与大小	230
二、病毒结构	231
三、病毒的分型与变异	231
四、病毒理化特性	231
第二节 临床表现	231
第三节 流行病学特征	232
第四节 实验室检验	232
一、样品的采集与处理	232
二、病毒的分离培养	232
三、实验室诊断方法	233
四、实验室诊断标准	234
第五节 预防与治疗	234
第二十二章 小 RNA 病毒及其检验	235
第一节 病毒生物学特性	235
一、病毒形态与大小	235
二、病毒结构	235
三、病毒分型与变异	237
四、病毒理化特性	238
第二节 临床表现	239
第三节 流行病学特征	239
一、脊髓灰质炎病毒的流行特征	239
二、甲型肝炎病毒的流行特征	239
第四节 实验室检验	239
一、脊髓灰质炎病毒的实验室检验	239
二、甲型肝炎病毒的实验室检验	244
第五节 预防与治疗	245
一、脊髓灰质炎的预防和治疗	245
二、甲型肝炎的预防和治疗	246
第二十三章 冠状病毒及其检验	247
第一节 病毒生物学特性	247
一、病毒形态与大小	247
二、病毒结构	247
三、病毒分型与变异	249
四、病毒理化特性	249
第二节 临床表现	250
第三节 流行病学特征	250
第四节 实验室检验	251