

医用病毒学检验

(试用教材)

中国人民
解放军

沈阳军区后勤部卫生部组编

一九七二年七月

毛主席语录

路线是个纲，纲举目张。

备战、备荒、为人民。

应当积极地预防和医治人民的疾病，推广人民的医药卫生事业。

自力更生，艰苦奋斗，破除迷信，解放思想。

說 明

伟大领袖毛主席教导我们“为什么人的问题，是一个根本的问题，原则的问题”。部队医学检验人员，必须为工农兵服务，为大多数人服务。为此，我们在沈阳军区后勤部卫生部党委领导下，组编了“临床检验”，主要供本区培训检验人员使用，并供临床检验人员参考。

为便于专业学习，本书分为：临床常规检验、临床血液病学检验、临床生化检验、医用微生物学检验、医用病毒学检验、医用寄生虫学检验和免疫血清学检验等七册。

由于我们路线斗争觉悟不高，专业水平有限，时间仓促，一定会有许多缺点与错误，请批评指导，提出宝贵意见，以利改进。

一九七二年七月

医用病毒学检验

目 录

第一章 概 论

| | |
|------------------|---|
| 第一节 病毒的定义..... | 3 |
| 第二节 病毒的特性..... | 3 |
| 一、形态和大小..... | 3 |
| 二、抵抗力..... | 3 |
| 三、化学成份..... | 5 |
| 四、寄生性..... | 5 |
| 五、变异..... | 6 |
| 六、干扰现象..... | 6 |
| 七、包涵体..... | 7 |
| 第三节 研究病毒的方法 | |
| 一、物理方法..... | 8 |
| (一) 镜检法..... | 8 |
| (二) 过滤法..... | 8 |
| (三) 超速离心测验法..... | 8 |
| (四) 电泳法..... | 8 |
| 二、生物学的方法..... | 8 |
| 三、血清学方法..... | 8 |

第四节 标本的收集运送和保存

- 一、标本的种类.....12
- 二、标本采取时间.....12
- 三、标本运送.....13
- 四、保存.....13

第二章 基本技术

第一节 动物实验.....14

- 一、实验动物的选择.....14
 - (一) 动物种类.....14
 - (二) 动物年龄.....14
- 二、实验动物接种方法.....16
 - (一) 一般注意事项.....16
 - (二) 接种方法.....16
 - 1. 鼻内接种.....16
 - 2. 脑内接种.....17
 - 3. 静脉接种.....17
 - 4. 皮内接种.....18
 - 5. 皮下接种.....18
 - 6. 腹腔内接种.....18
- 三、实验动物观察与管理.....19
 - (一) 对饲养室的要求.....19
 - (二) 观察与管理.....19
 - (三) 实验动物的标记.....20
- 四、实验动物采血法.....21
 - (一) 家兔.....21

| | |
|------------------|-----------|
| 1. 耳静脉采血法 | 21 |
| 2. 心脏采血法 | 21 |
| 3. 颈动脉放血法 | 21 |
| (二) 豚鼠 | 22 |
| 1. 心脏采血法 | 22 |
| 2. 颈动脉放血法 | 22 |
| (三) 小白鼠 | 22 |
| 1. 心脏采血法 | 22 |
| 2. 颈动脉放血法 | 22 |
| (四) 鸡 | 22 |
| 1. 翅静脉采血法 | 22 |
| 2. 心脏采血法 | 23 |
| 第二节鸡胚培养方法 | 23 |
| 一、鸡蛋保存、孵育及检视 | 24 |
| (一) 保存 | 24 |
| (二) 孵育 | 24 |
| 二、鸡胚各种途径的接种法 | 24 |
| (一) 卵黄囊接种法 | 24 |
| (二) 绒毛尿囊膜接种法 | 25 |
| (三) 尿囊腔接种法 | 26 |
| (四) 羊膜腔接种法 | 26 |
| 三、接种后鸡胚的孵育及观察 | 28 |
| 四、鸡胚的解剖及收获 | 28 |
| (一) 鸡胚及卵黄囊膜收获方法 | 28 |
| (二) 绒毛尿囊膜收获方法 | 30 |
| (三) 尿囊液收获方法 | 30 |

| | |
|--------------------------|-----------|
| (四) 羊水收获方法..... | 30 |
| (五) 鸡胚肺采取法..... | 30 |
| 第三节 组织培养..... | 32 |
| 一、概述..... | 32 |
| 二、组织培养方法..... | 32 |
| (一) 组织块培养..... | 32 |
| (二) 细胞培养..... | 32 |
| 三、器材准备与溶液的配制..... | 33 |
| (一) 器材准备..... | 33 |
| 1. 器材准备注意事项..... | 33 |
| 2. 玻璃器材的清洁及准备..... | 33 |
| 3. 胶塞的清洁及灭菌..... | 34 |
| 4. 玻璃滤器的处理..... | 34 |
| 5. 解剖器械的准备..... | 35 |
| (二) 溶液的配制..... | 35 |
| 1. 溶液配制时注意事项..... | 35 |
| 2. 亨克 (HankS) 氏液..... | 35 |
| 3. 艾耳 (Earle) 氏溶液..... | 37 |
| 4. 磷酸盐缓冲溶液 (P.B.S.)..... | 37 |
| 5. 碳酸氢钠溶液..... | 38 |
| 6. 乳且白水解物溶液..... | 38 |
| 7. 胰且白酶溶液..... | 38 |
| 8. 青霉素与链霉素混合液..... | 39 |
| 9. 清洁液..... | 39 |
| 10. 硫酸一硝酸钠溶液..... | 40 |
| 11. 细胞计数液..... | 40 |

| | |
|------------------------------|----|
| 12. 培养液 | 40 |
| 13. 维持液 | 40 |
| 四、人胚肾单层细胞的培养法 | 41 |
| (一) 组织材料的选择 | 41 |
| (二) 组织材料的采取方法 | 41 |
| (三) 消化方法 | 41 |
| (四) 细胞计数 | 42 |
| (五) 分装及培养 | 42 |
| (六) 换液 | 42 |
| 第四节 半数致死量的测定 | 43 |
| 一、意义 | 43 |
| 二、操作方法 | 43 |
| 三、LD ₅₀ 在中和试验中的应用 | 45 |

第三章 噬菌体

| | |
|--------------|----|
| 第一节 简史 | 49 |
| 第二节 噬菌体的主要性状 | 50 |
| 一、形态 | 50 |
| 二、化学成分 | 51 |
| 三、抵抗力 | 52 |
| 四、电荷 | 53 |
| 五、特异性 | 53 |
| 六、抗原性 | 54 |
| 第三节 噬菌过程 | 54 |
| 一、吸附阶段 | 54 |
| 二、繁殖阶段 | 55 |

| | |
|------------------------------|----|
| 三、細菌裂解放出噬菌体阶段..... | 59 |
| 第四节 噬菌体与寄生細菌的关系 | 60 |
| 一、带噬菌体細菌..... | 60 |
| 二、抗噬菌体細菌..... | 60 |
| 三、干扰及抑制現象..... | 61 |
| 第五节 噬菌体的分离和滴定 | 62 |
| 一、噬菌体的分离..... | 62 |
| 二、噬菌体的滴定..... | 62 |
| (一) 无菌試驗..... | 62 |
| (二) 安全試驗..... | 62 |
| (三) 效价滴定..... | 62 |
| 第六节 噬菌体的本质 | 63 |
| 第七节 噬菌体的用途 | 63 |

第四章 呼吸道病毒

| | |
|--------------------------|----|
| 第一节 流行性感冒病毒 | 66 |
| 一、概述..... | 66 |
| (一) 形态大小..... | 66 |
| (二) 培养及动物試驗..... | 66 |
| (三) 抵抗力..... | 67 |
| (四) 抗原构造..... | 67 |
| (五) 变异性..... | 67 |
| (六) 致病性和免疫性..... | 68 |
| 二、流行性感冒病毒的分离..... | 69 |
| (一) 标本采集..... | 69 |
| (二) 用鸡胚羊膜腔接种法分离病毒..... | 69 |

| | |
|---------------------|----|
| 三、血細胞凝集試驗及血細胞凝集抑制試驗 | 72 |
| (一) 血細胞凝集試驗 | 72 |
| 1. 料材的準備 | 72 |
| 2. 操作方法 | 73 |
| 3. 注意事項 | 74 |
| (二) 血細胞凝集抑制試驗 | 75 |
| 1. 材料 | 75 |
| 2. 血清處理方法 | 75 |
| 3. 操作方法 | 76 |
| 4. 注意事項 | 77 |
| 四、早期診斷 | 78 |
| 附錄：霍亂濾液的製造和效力的測定方法 | 78 |
| 第二節 腺病毒 | 82 |
| 一、概述 | 82 |
| (一) 病毒性病狀 | 82 |
| (二) 致病性及免疫性 | 83 |
| 二、實驗診斷 | 84 |
| (一) 病毒分離 | 84 |
| (二) 血清學試驗 | 84 |
| 第三節 流行性腮腺炎病毒 | 85 |
| 一、概述 | 85 |
| (一) 病毒性病狀 | 85 |
| (二) 致病性與免疫性 | 85 |
| (三) 預防及治療 | 86 |
| 二、實驗診斷 | 86 |
| (一) 病毒分離 | 86 |

| | |
|----------------------|-----------|
| (二) 血清学試驗..... | 86 |
| 第四节 麻疹病毒..... | 86 |
| 一、概述..... | 86 |
| (一) 病毒性状..... | 87 |
| (二) 致病性..... | 87 |
| (三) 免疫性..... | 88 |
| (四) 預防与治疗..... | 88 |
| 二、实验诊断..... | 89 |
| (一) 病毒分离..... | 89 |
| (二) 血清学鉴定..... | 89 |
| 第五节 鼻病毒..... | 89 |
| 一、概述..... | 89 |
| 二、实验诊断..... | 92 |
| (一) 标本采集及处理..... | 92 |
| (二) 病毒分离..... | 93 |
| (三) 病毒鉴定..... | 93 |

第五章 脑炎病毒

| | |
|----------------------------|-----------|
| 第一节 流行性乙型脑炎病毒..... | 95 |
| 一、概述..... | 95 |
| 二、血清学試驗..... | 99 |
| (一) 补体結合試驗..... | 99 |
| (二) 中和試驗..... | 113 |
| (三) 血細胞凝集試驗和血細胞凝集抑制試驗..... | 117 |
| 三、病毒的分离和鉴定..... | 122 |

| | |
|--------------------------------|------------|
| 四、流行性乙型脑炎的早期诊断 | 125 |
| 第二节 森林脑炎病毒 | 126 |
| 一、概述 | 126 |
| 二、病毒分离和鉴定 | 127 |
| 三、血清学试验 | 128 |
| 第三节 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒 | 128 |
| 一、病毒分离 | 129 |
| 二、血清反应 | 129 |

第六章 肠道病毒

| | |
|-------------------------------------|------------|
| 第一节 脊髓灰白质炎病毒 | 130 |
| 一、概述 | 130 |
| 二、病毒分离和鉴定 | 133 |
| 三、血清学试验 | 140 |
| 第二节 柯萨奇病毒组 | 143 |
| 一、概述 | 143 |
| 二、病毒分离和鉴定 | 147 |
| 三、血清学试验 | 149 |
| 第三节 人类肠道细胞致病性病毒 (ECHO) | 151 |
| 一、概述 | 151 |
| 二、病毒的分离和鉴定 | 152 |

第七章 狂犬病病毒

| | |
|--------------------------|------------|
| 第一节 概述 | 154 |
| 第二节 标本采集及处理 | 155 |
| 第三节 组织病理诊断 | 157 |

| | |
|--------------------|-----|
| 第四节 病毒的分离和鉴定 | 158 |
|--------------------|-----|

第八章 痘疱病毒

| | |
|-----------------|-----|
| 第一节 天花和牛痘 | 160 |
|-----------------|-----|

| | |
|------------|-----|
| 一、概述 | 160 |
|------------|-----|

| | |
|------------------|-----|
| 二、病毒的分离和鉴定 | 161 |
|------------------|-----|

| | |
|---------------|-----|
| 三、血清学试验 | 164 |
|---------------|-----|

| | |
|---------------|-----|
| 四、显微镜检查 | 165 |
|---------------|-----|

| | |
|----------------|-----|
| 五、家兔角膜试验 | 166 |
|----------------|-----|

| | |
|----------------|-----|
| 第二节 单纯疱疹 | 167 |
|----------------|-----|

| | |
|-----------------|-----|
| 一、病毒分离和鉴定 | 197 |
|-----------------|-----|

| | |
|---------------|-----|
| 二、血清学诊断 | 169 |
|---------------|-----|

第九章 其他病毒

| | |
|----------------|-----|
| 第一节 伤风病毒 | 170 |
|----------------|-----|

| | |
|-----------------------|-----|
| 第二节 原发性非典型性肺炎病毒 | 170 |
|-----------------------|-----|

| | |
|------------------------|-----|
| 第三节 传染性单核细胞增多症病毒 | 172 |
|------------------------|-----|

| | |
|-------------------|-----|
| 第四节 传染性肝炎病毒 | 175 |
|-------------------|-----|

| | |
|-----------------|-----|
| 第五节 出血热病毒 | 176 |
|-----------------|-----|

| | |
|-----------------|-----|
| 第六节 登革热病毒 | 177 |
|-----------------|-----|

| | |
|-----------------|-----|
| 第七节 白蛉热病毒 | 179 |
|-----------------|-----|

| | |
|-----------------|-----|
| 第八节 黄热病病毒 | 181 |
|-----------------|-----|

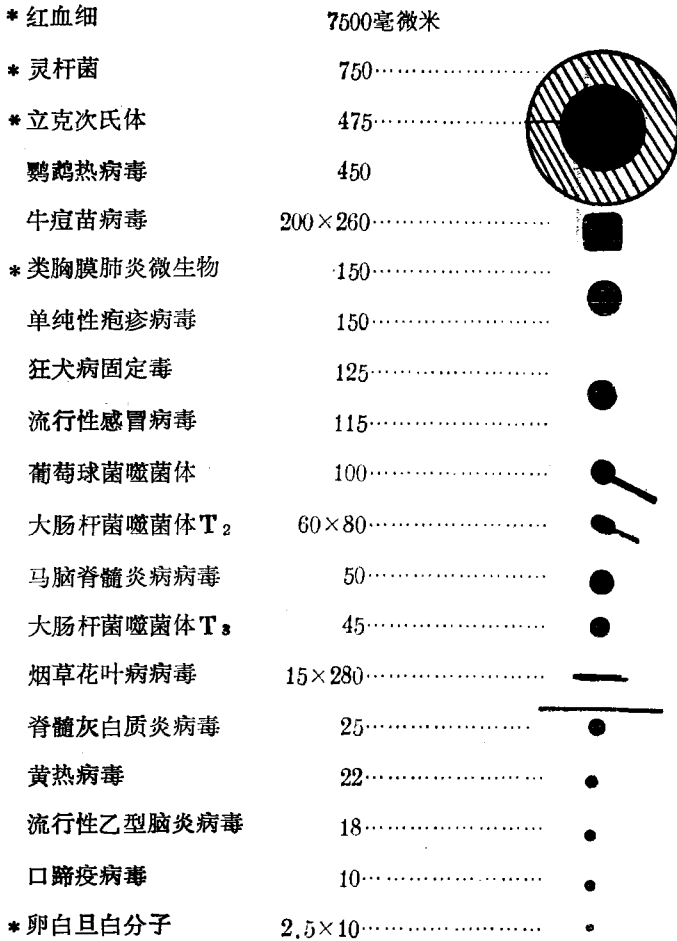
| | |
|-----------------|-----|
| 第九节 鹦鹉热病毒 | 184 |
|-----------------|-----|

第一章 概 论

病毒学是研究病毒及病毒性疾病的科学，病毒包括人类的、动物的、植物的、和細菌的病毒，医学病毒学是以人类病毒性疾病的病原体为对象，研究人类病毒在自然界生活循环的全部过程和性质，以及在人体所引起的病理反应过程，为防治和最后消灭这些传染病提供科学依据，如人类中流行很广的疾病天花、麻疹、流感、传染性肝炎和脊髓灰白质炎等都是由病毒所引起。天花和流感等曾在全世界大流行，传染性肝炎目前已遍及全世界，且还未得到有效控制。目前还有不少疾病的病原不明，其中可能有些是病毒所引起的。血清和化学治疗对細菌传染虽具有較好效果，而对病毒传染多数无效或效果不显著。解放后，尤其是在无产阶级文化大革命后，破除了病毒神秘論，大搞群众运动，先后开展了流行性乙型脑炎、流感、砂眼、脊髓灰白质炎，麻疹、腺病毒、感冒病毒等方面的研究，并已制成大批疫苗；流行性乙型脑炎疫苗、脊髓灰白质炎减毒疫苗、麻疹灭毒活疫苗和灭活疫苗、流感减毒疫苗和流感化学减毒疫苗，并进行了大規模的人体免疫，为防治疾病取得了一定的效果，現在根据病毒的特性，主要是根据病毒与其他微生物学的差别提供一个概念性的认识。

病毒的大小和其他物体的比较

图 1



(有 * 号者不属于病毒)

第一节 病毒的定义

病毒是能生活繁殖的活微粒，必須寄生在活組織細胞內，因此，在普通培养基上不能繁殖。体积較細菌和立克次氏体为小，能通过細菌所不能通过的滤器，所以又叫做滤过性病毒，有些病毒能形成包涵体。

第二节 病毒的特性

一、形态和大小

(一) 形态：病毒的形态极不一致，呈各种式样：

球形：如馬腦脊髓炎病毒，流感病毒。

絲状：新分离的流行性感冒病毒。

杆状：烟草鑲嵌病毒。

砖状：牛痘病毒，天花病毒。

蝌蚪状：噬菌体。

(二) 大小：病毒一般都是很小的可通过滤器。但也有較大的，在普通显微鏡下可以看見如鸚鵡热病毒、牛痘病毒等如图 1。測量病毒大小可以用滤过、沉降、泳散及直接測量等方法。

二、抵抗力

病毒耐冷不耐热，60°C 三十分鐘大部分病毒可以灭活（肝炎例外）-25°C—-70°C 速冷保存活力，干燥保存時間長，（天花痂可保存數年）日光照射能减低毒力，牛痘苗可

用紫外线灭活。病毒在受到热的影响时，可以发生蛋白质变性，从而影响病毒进入易感细胞，也可能病毒颗粒虽仍进入细胞，但进入细胞后病毒核酸不易从病毒颗粒中释放出来，以致病毒不能在细胞内复制。所以常用煮沸或高压蒸气进行消毒，不过温度对病毒的影响与病毒溶液有关，粗制的病毒悬液含有很多有机物质，所以在室温中一般比较稳定。病毒所处环境不同，对温度敏感程度也不一样，用蒸馏水或生理盐水稀释病毒，某些病毒即使在室温条件下也不很稳定。病毒在某些阳离子存在时对热比较稳定，如噬菌体T₂。在溶液中有 10^{-2} MMg⁺⁺或Ca⁺⁺时，比较耐热。在1/10M氯化钠溶液中灭活时间便比在以上溶液中快一百万倍。当脊髓灰质炎病毒悬液中，含有50微克/毫升的L-胱氨酸时，病毒比较耐热。科赛奇(Coxsackie) A₉、B₃、ECHO，L-胱氨酸的量须要更大才能有保护作用。这可能是病毒蛋白质巯基与胱氨酸结合成S-S键，所以加热时不易受氧化的影响。组织培养液的灭活疫苗在保存时抗原性一般明显降低，在组织培养疫苗中加入L-胱氨酸便可能使疫苗的抗原性不易降低，此值得进一步探讨的。

冰冻速度与病毒活力的保存有很大的关系，在快速冰冻时，病毒活力往往不受影响，在徐徐冰冻时，病毒活力往往受到影响。冰冻融化对病毒的影响与病毒的种类有关，有的易受冰冻融化的影响而灭活，有的则不易，牛痘病毒不易受影响，而类牛痘病毒几次冻融后短时间内便灭活。冰冻融化对病毒的影响与病毒稀释液也有很大的关系，疱疹病毒在脑组织悬液中不易受影响，在生理盐水溶液中受影响而灭活。冰冻融化虽对病毒的活力有影响，但对病毒的抗原性往往没