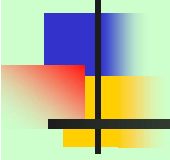
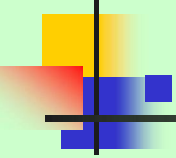


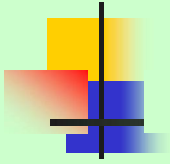
病毒学检验





《极度恐慌》(1995)

- 最凶险的“超级癌症”——艾滋病 (1981美国)
- 世界性问题——疯牛病 (1985年英国)



- **第四章 病毒感染的实验诊断**
- **第四篇 临床病毒学**
- **第二十一章 病毒的分类与命名**
- **第二十二章 呼吸道病毒**
- **第二十三章 肝炎病毒**
- **第二十四章 逆转录病毒**
- **第二十五章 肠道病毒 (自学)**
- **第二十六章 急性胃肠炎病毒**
- **第二十七章 黄病毒**
- **第二十八章 出血热病毒 (自学)**
- **第二十九章 疱疹病毒**
- **第三十章 朊粒 (自学)**



提 纲

- 病毒学总论
- 一、概念
- 二、分类与命名
- 三、生物学性状
- 四、病毒学检验
- 病毒学各论
- 一、呼吸道病毒
- 二、逆转录病毒
- 三、肝炎病毒
- 四、乙脑病毒
- 五、消化道病毒



重点

- 总论（微生物学检验）
- 肝炎病毒（甲、乙）
- 流感病毒
- HIV
- 乙型脑炎病毒
- 疱疹病毒



病毒学总论

- 公元前二至三个世纪 印度和中国 天花

- 中国 人痘预防天花

- **1796** 英

国医生

Jenner

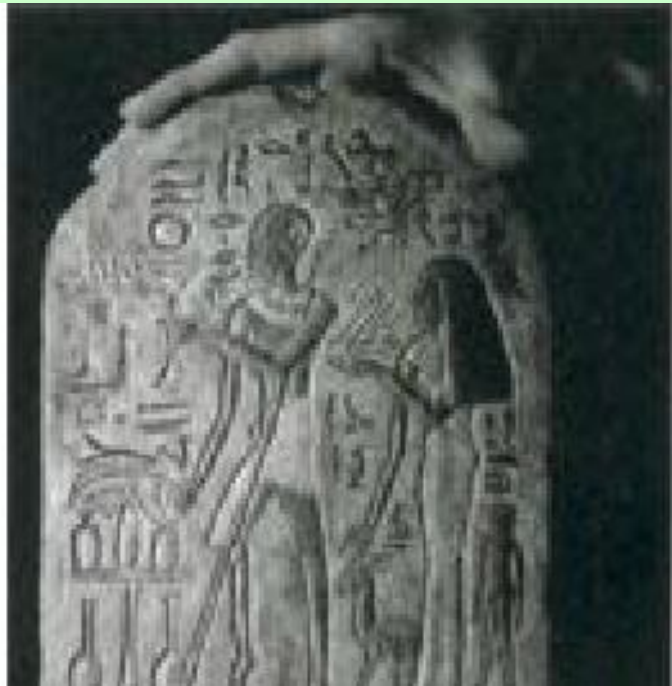
牛痘

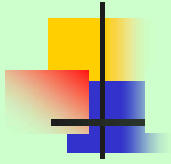
- 考古学

古埃及

石刻浮雕

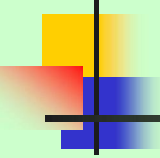
雕





- 公元前四世纪 **Aristotle** 病犬的疯狂和暴怒，通过咬啮能将病魔传给其他的动物和人——恐水病
- **1884年** 法国人 **Pasteur** 发明狂犬疫苗





- 郁金香碎色病——荷兰阿姆斯特丹**Rijks**博物馆**1619**年

- 一幅得病的
- 郁金香静物
- 画



■ 一、概念

- **1892** 从事烟草病工作的年青的俄国科学家伊万诺夫斯基(**Ivanovski**)
- **1898**年，荷兰科学家贝杰林克(**Beijerinck**)
- 烟草花叶病毒 电子显微镜

- *Virus*: 一类由蛋白质外壳包裹的DNA或RNA

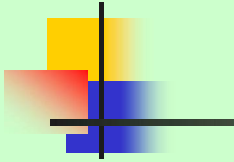
- 特点: 非细胞形态、专性细胞内寄生、仅1种核酸、自我复制、缺乏完整的酶和能量系统



■ **Ivanovski**



■ **Beijerinck**

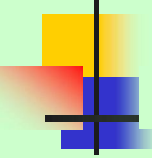




- 与细菌的区别

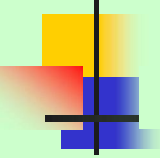
	病毒	细菌
专性细胞内寄生	是	是
繁殖方式	复制	二分裂
DNA/RNA	仅 1 种	都有
抗生素	不敏感	敏感
干扰素	敏感	不敏感

■ 二、分类与命名

- 
- 科、（亚科）、属、种、型、亚型
 - 按核酸：**DNA**、**RNA**、逆转录类——**3**类
 - 分为**71**个科、**11**个亚科、**164**个属
 - 其他：卫星病毒、类病毒、朊粒

 - **1968**香港甲型流感病毒：正粘病毒科、甲/乙型流感病毒属、甲型流感病毒（种）、甲**3**亚型

 - 按临床应用分类常用



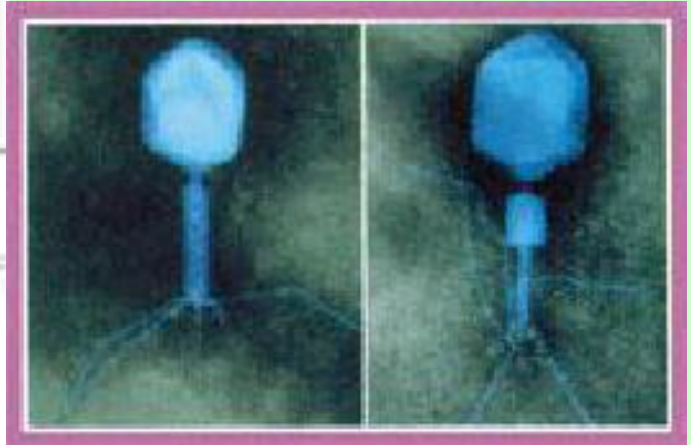
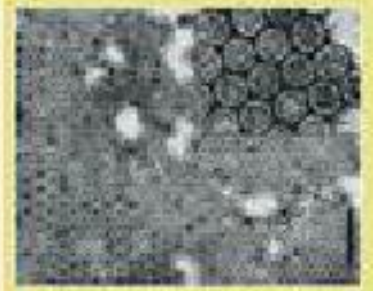
■ 三、生物学性状

■ 1 大小形态

- 体积 **最**微小
- **nm** 电子显微镜
- 最大 **>250nm** (牛痘苗) 光镜

- 形态：球形、丝状、砖形、弹状、蝌蚪状等





■ 2 结构及化学组成

■ 结构 **最**简单

■ 刻壳体：核酸核心 + 蛋白质外壳

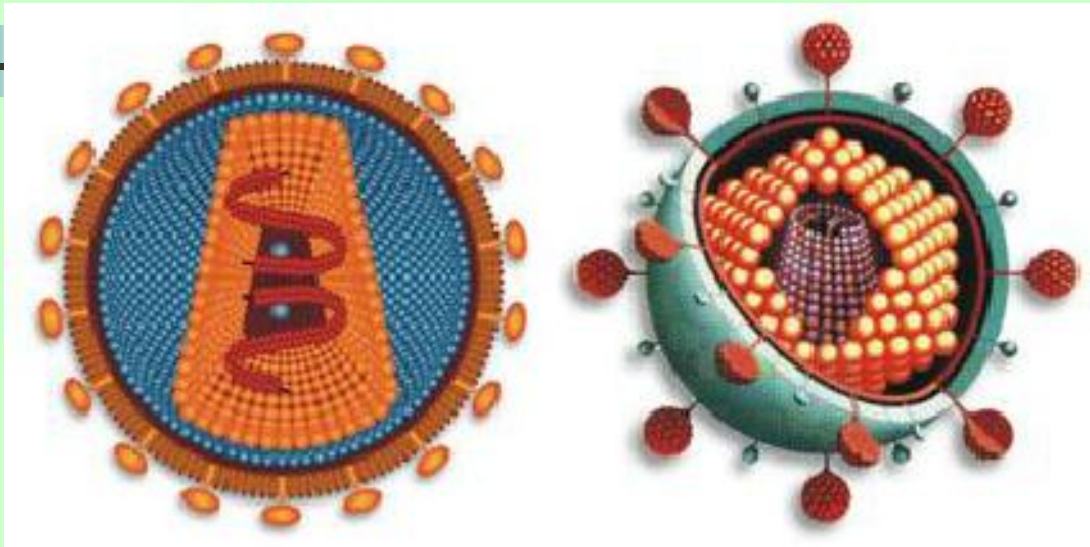
■ 包膜

■ (1) 核酸：**DNA**（多为双链）或 **RNA**
■ （多为单链） 感染性

■ (2) 蛋白质：保护、介导、抗原

■ (3) 包膜：脂质双层、蛋白、钉状突起
■ 与致病有关

■ (4) 酶：**RNA**多聚酶、逆转录酶、神经氨酸酶等



■病毒基本结构模式图

■ 3 病毒的增殖

■ 控制指令：病毒核酸

■ 原料和合成酶提供者：宿主细胞

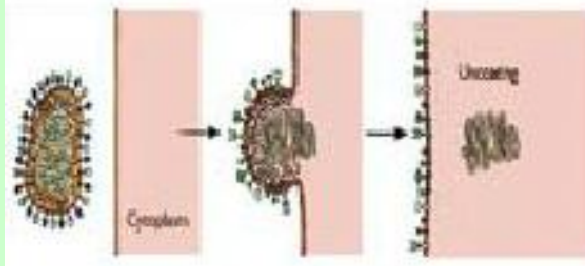
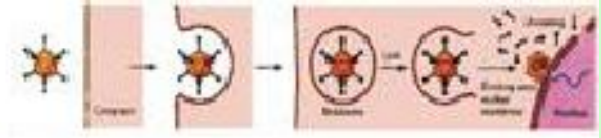
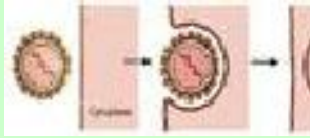
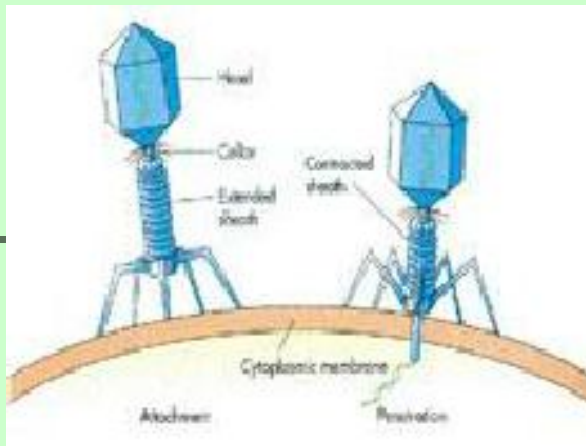
■ 部位：宿主细胞

■ 吸附——穿入——脱壳——生物合成——成熟释放

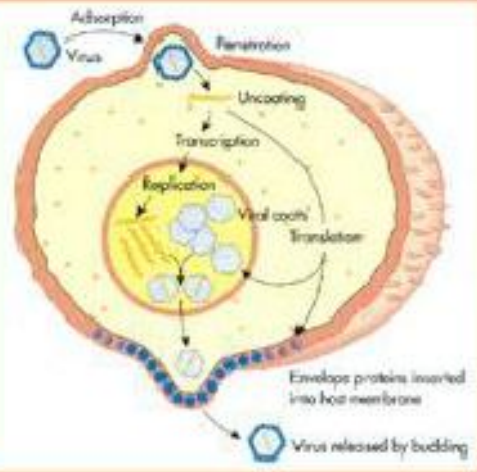
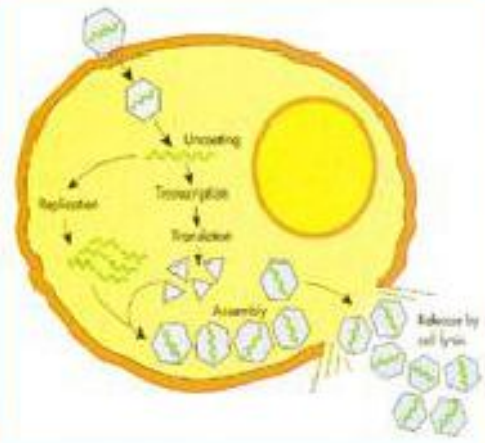
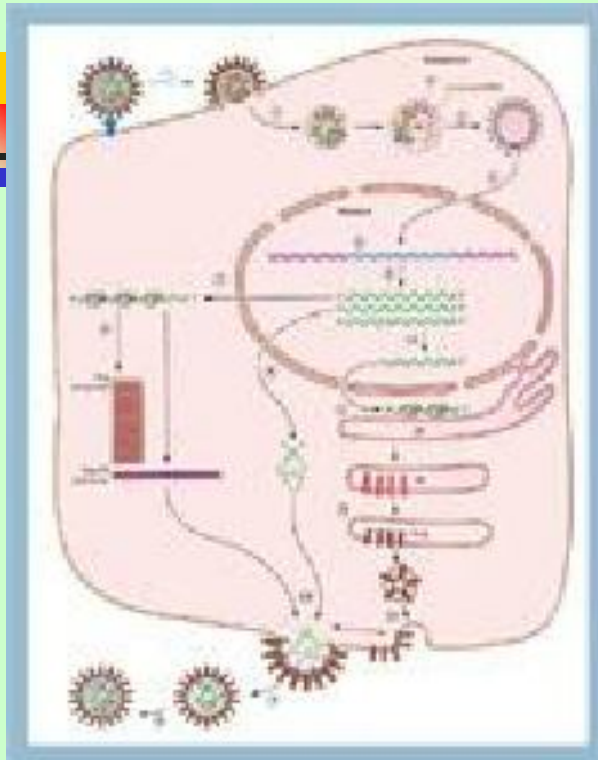
■ 生物合成：


A 蛋白合成：病毒核酸——**mRNA**——早期蛋白（非结构性）——复制核酸——晚期蛋白（结构性）

B 核酸：自我复制



■病毒穿入的不同方式

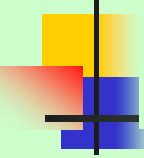


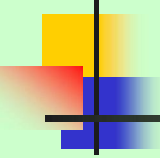


三个概念：

- 顿挫感染：合成或装配障碍
- 缺陷病毒：基因组有缺陷，需要辅助病毒
- 干扰现象：一种病毒抑制另一种病毒的复制
干扰素

■ 4 抵抗力

- 
- 灭活：失去感染性，保持其他活性
 - 灭活病毒的关键：破坏核酸、改变蛋白质及脂膜结构
 - 物理：耐干和冷、不耐热、辐射、超声波
 - 化学：较细菌强
 - 对脂溶剂、酚、氧化剂敏感
 - 对醛（疫苗）、抗生素耐受
 - 中草药



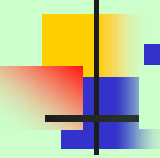
■ 5 遗传变异

- 突变

- 基因重组

如流感病毒

■ 6 致病



- 病毒 宿主 环境

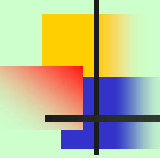
- 类型：急性感染

- 持续性感染：慢性、潜伏、慢病毒

- 致病机理：

- (1) 细胞水平：杀细胞效应 (**CPE**)、稳定状态感染 (细胞生长与病毒增殖平衡)、致细胞增生或恶性变

- (2) 机体水平：直接杀伤、炎症、免疫损伤



- 病毒传播方式：

- **(1)** 水平传播

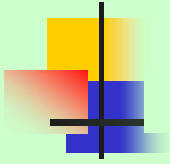
- 皮肤

- 黏膜（呼吸道、消化道等）

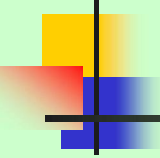
- **(2)** 垂直传播

- 胎盘或产道

■ 7 抗病毒免疫



- (1) 非特异性
 - 先天不感受性（自然屏障、吞噬作用、年龄与生理、细胞非相容性）
 - 炎症
 - 干扰素
- (2) 特异性
 - 体液免疫：**IgG** 分泌型**IgA** 补体
中和作用
 - 细胞免疫：**T**、**NK**、**K**、**M ϕ** 细胞



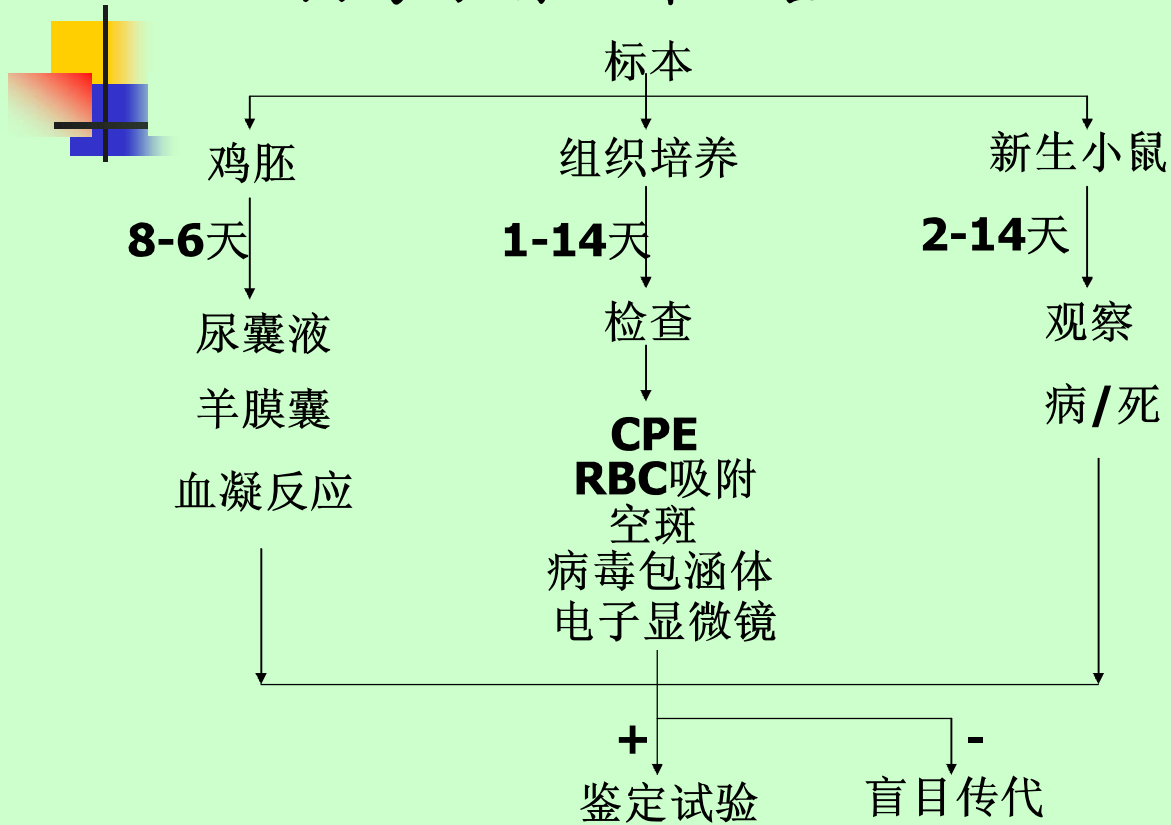
■ 四、病毒学检验

■ 1 标本

- 采集：时间 种类
- 血液 脑脊液 粪便 含漱液 咽喉拭子
尿 尸检标本
- 冷藏 及时送检 防干燥、污染

- 处理：粗提 提纯和浓缩 抗生素

■ 2 病毒分离培养与鉴定



■(1)鸡胚接种

■一般**9-12**日龄胚，不同病毒选不同部位

■绒毛尿囊膜

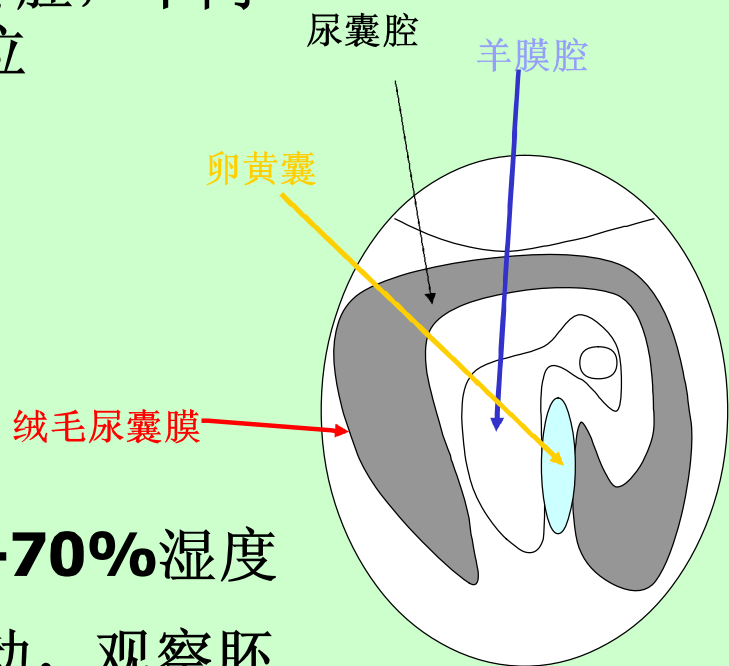
■尿囊腔

■羊膜腔

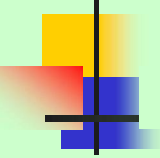
■卵黄囊

■**38-39℃ 40-70%**湿度

■**3**天后每日翻动，观察胚影、血管



流感病毒尿囊腔接种



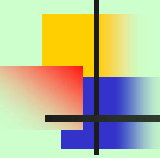
■ (2)组织培养

■ 将人或动物离体的活组织或分散活细胞，在实验室的试管或培养瓶中，模拟体内生理条件使之生存和生长。

■ 原代和次代细胞培养

■ 二倍体细胞株（广泛应用）

■ 传代细胞培养（分离鉴定）



- **(3)动物接种**

- 选择敏感动物

- 新生小鼠 猴 兔 豚鼠等

- 组织悬液传代鉴定

■ (4) 鉴定试验:

■ ① 组织培养中增殖的检查与鉴定

■ A 细胞病变效应 (**cytopathic effect, CPE**)

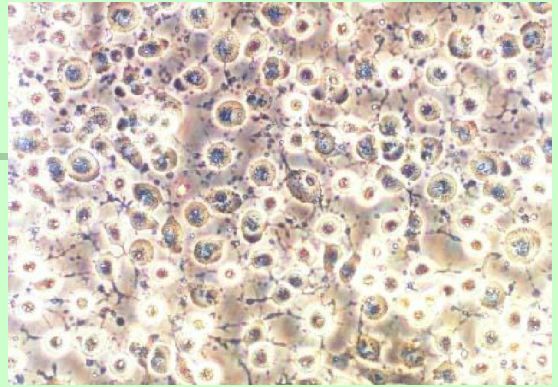
- 细胞圆缩、分散
- 细胞肿大、颗粒增多、聚集呈葡萄状
- 多核巨细胞
- 轻微病变
- 胞质中空泡形成
- 细胞核/浆内 **1-数个嗜酸/碱性包涵体**

■ B **RBC** 吸附及吸附抑制试验

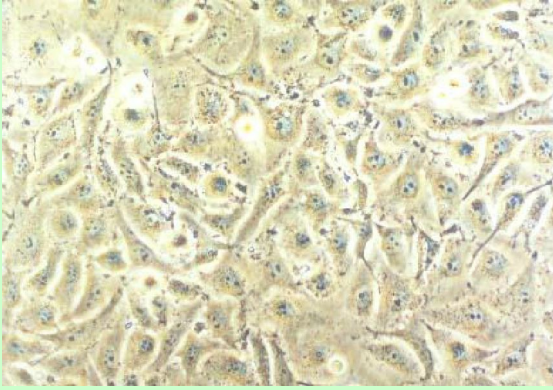
■ C 干扰现象

■ D 细胞代谢改变 **PH**

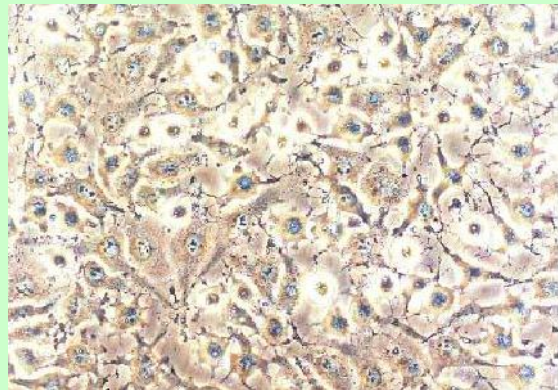
■细胞圆缩，分散

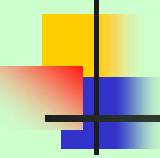


■正常



■细胞颗粒增粗





② 病毒数量与感染性测定

A 病毒颗粒计数

EM 血凝试验

B 感染性测定

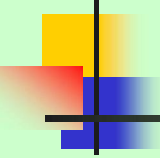
空斑形成试验

50%ID50或50%TCID50



- ③ 病毒理化性质

- **A** 核酸类型
- **B** 大小形态
- **C** 乙醚敏感
- **D** 耐酸试验

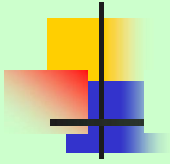


- ④ 最后鉴定

- **A** 血清学方法 参考血清

- **B** 免疫电镜

- **C** 分子生物学方法

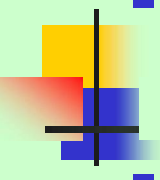


■ 3 血清学诊断

■ 意义:

- 诊断无法培养或增殖缓慢的病毒感染
- 鉴定病毒

- 急性期和恢复期双份血清抗体滴度**4**倍以上增高可诊断

- 
- **(1) 补体结合试验** 已知抗原测抗体 补体结合抗体产生早消失快 早期诊断
 - **(2) 中和试验** 感染性消失 一般为**IgG** 检查抗体产生情况，鉴定病毒
 - **(3) 血凝抑制试验** 鉴别病毒型别 快速特异
 - **(4) 间接免疫荧光技术** 固化抗原测抗体
 - **(5) ELISA** 间接法 夹心法

■ 4 早期快速诊断

■ (1) 病毒抗原的检出

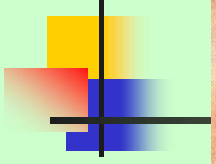
- **A** 胞内病毒抗原 细胞标本 特异抗体
 - 免疫荧光技术（直接、间接）
 - 酶免疫技术（直接、间接）
- **B** 胞外病毒抗原 **ELISA**
- **C** 病毒mRNA 原位杂交

■ (2) 形态学检查

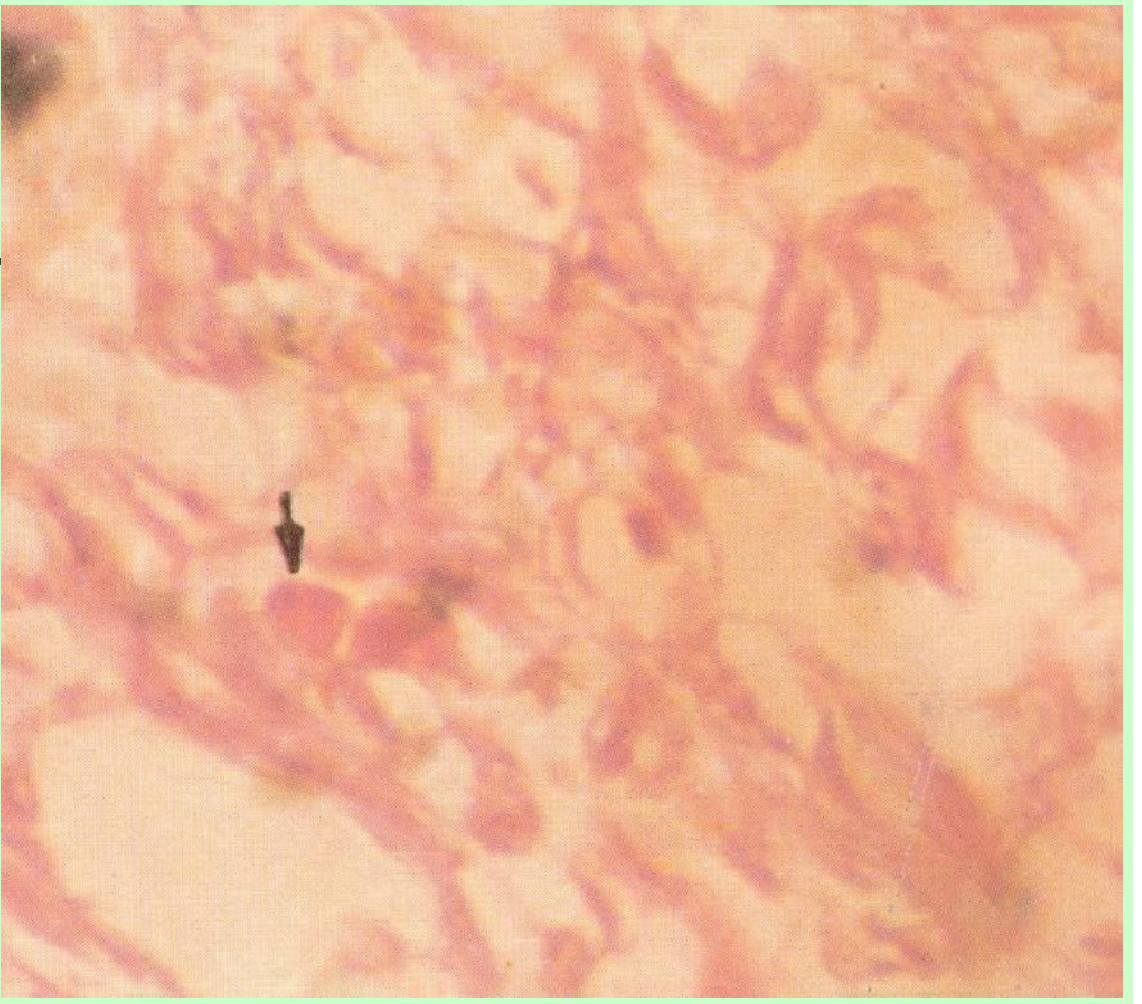
- **A** 光镜 找包涵体
- **B** 电镜 找病毒颗粒

■ (3) 早期抗体检测

■ (4) 核酸检测



狂犬病毒内基小体



**C
M
V** 核内嗜酸性包涵体

