

## SARS 动物模型的研究

刘伯华<sup>1</sup> 吴东来<sup>2</sup> 战大伟<sup>3</sup> 秦鄂德<sup>1\*</sup> 祝庆余<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> 军事医学科学院微生物流行病学研究所 北京 100071)

(<sup>2</sup> 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所 哈尔滨 100051)

(<sup>3</sup> 军事医学科学院实验动物中心 北京 100071)

**摘 要** 利用分离的 SARS-CoV 毒株 BJ-01 经滴鼻等途径感染大鼠、豚鼠、黑线仓鼠、白化仓鼠和雏鸡等 5 个种属的动物,筛选对 SARS 易感的小动物。在此基础上,选择食蟹猴和恒河猴进行 SARS 的人工感染实验,评价其作为 SARS 动物模型的可能性。结果表明,大鼠、豚鼠、黑线仓鼠、白化仓鼠和雏鸡等动物对 SARS 均不易感,感染后未观察到任何的临床及病理学改变,不过从感染 2 周后的大鼠和豚鼠的肺和咽等组织样本中检测到了的特有的核酸,提示 SARS-CoV 能够在这两种动物的体内复制。从感染猴子的分泌物和脏器中分离出了病毒,证明 SARS-CoV 也能够能够在猴子体内复制。临床和病理组织学检查结果显示,SARS 病毒接种食蟹猴和恒河猴后,可以引起所有实验猴发生间质性肺炎,其病理学改变与人类感染 SARS 病毒后肺部病变近似,但病变的严重程度比较人类的轻得多,除此之外无任何其它的明显的临床表现及组织病理学改变,按照动物模型的指标判断食蟹猴和恒河猴并不是 SARS 的理想动物模型,不过在目前尚没有更理想的动物模型情况下,以间质性肺炎为病理学检查指标,恒河猴和食蟹猴可以作为评价抗 SARS 药物和疫苗的动物模型。

**关键词** SARS 动物模型

中图分类号:Q955 文献标识码:A 文章编号:1001-6209(2004)06-0711-06

重症急性呼吸道综合症(Severe acute respiratory syndrome, SARS),又称“非典型肺炎”,是在亚洲、北美和欧洲新出现的一种人的严重的呼吸道传染病。SARS 主要通过直接接触进行传播,且传播速度极快,感染率和病死率很高。自 2002 年 11 月在中国南方出现首个 SARS 临床病例后,迅速蔓延到世界很多地区,截至 2003 年 7 月初世界卫生组织(WHO)宣布全球疫情基本结束,其间先后共有 8400 多人感染,其中死亡将近 800 人<sup>[1]</sup>。SARS 感染的潜伏期通常为 2~7d,临床上通常以发热、数天后开始出现干咳和呼吸困难、X-射线透视肺部有阴影为特征,严重的最后因日益加重的呼吸衰竭而死亡,死亡率约为 3%~10%<sup>[2]</sup>。SARS 病死者尸检典型的病理变化包括:肺脏表面广泛出血,在大多数肺泡中可见浆液样的、纤维蛋白样的和出血样的炎症,一些血管中存在微血栓,肺泡间质性单核炎性渗漏、广泛的肺泡破坏和肺细胞脱落及透明膜形成而增厚,在肺泡腔可

见纤维蛋白样物质和红血球,肺泡壁内皮细胞内可见病毒包涵体,一些气管动脉中存在血栓栓塞,淋巴结出血坏死很明显;脾脏淋巴细胞衰减等<sup>3,4,1</sup>。SARS 的快速传播和高的致死率以及缺乏有效的治疗使其成为一种全球性的威胁。

2003 年 3 月全球多个实验室先后从 SARS 病人组织样本中分离到一种冠状病毒(SARS-CoV),基因组序列分析的结果表明,这种新分离的冠状病毒不同于已知的任何人和动物的冠状病毒,此后又不断从 SARS 病人的呼吸道样品检测到 SARS-CoV 的 RNA,SARS 病人恢复期病人的血清中含有能与 SARS-CoV 反应的抗体,所有的这些证据暗示这种新的冠状病毒很有可能就是 SARS 的致病原。为了确定这种新的冠状病毒与 SARS 之间的关系,2003 年 4 月荷兰鹿特丹依拉兹马斯医学中心的科学家在食蟹猴上进行 SARS-CoV 人工感染实验,结果感染猴出现了类似于 SARS 病人的临床症状,尸检肺组织的

基金项目:全军医药卫生科研基金(03F003-2)

\* 通讯作者。Tel:86-10-66948624; Fax:86-10-63802193; E-mail:Qingyzh@yahoo.com.cn

作者简介:刘伯华(1972-)男,陕西礼泉人,助理研究员,博士,研究方向为分子病毒学。E-mail:bhl726915@sohu.com

其他作者:王翠娥<sup>1</sup>,孟庆文<sup>2</sup>,杨银辉<sup>1</sup>,尹训南<sup>2</sup>,韩伟国<sup>1</sup>,关云涛<sup>2</sup>,彭文明<sup>1</sup>,李昌文<sup>2</sup>,刘永刚<sup>2</sup>,王牟平<sup>2</sup>,刘全贵<sup>2</sup>,施慧颖<sup>4</sup>,丁志芬<sup>4</sup>(<sup>4</sup>北京生物制品研究所 北京 100024)

收稿日期:2004-06-23,修回日期:2004-09-22

病理组织学变化也基本与人的相似,并且从感染猴子的组织和分泌物中再次分离出了病毒,从而最终确定 SARS-CoV 就是 SARS 的致病原<sup>[5]</sup>。SARS 病原的确定加速了 SARS 诊断试验方法、抗病毒治疗药物和疫苗的研究。多种 SARS 的候选疫苗被成功研制出来,大量具有潜在治疗价值的药物也在组织培养的基础上得到了初步筛选。动物模型能够精确地再现疾病的急性和持续感染的病理学,并在疾病的疫苗和药物效果评价以及致病机理的研究中发挥不可替代的作用。由于冠状病毒种系特异性极强,目前除在食蟹猴上成功地复制出类似于人类 SARS 所见的症状外,尚无在其它种属的动物上感染成功的报道。缺乏理想的动物模型使得试验 SARS 疫苗和药物的临床试验变得极其复杂,因此成为目前 SARS 研究中亟待解决的问题之一。食蟹猴是最早报道成功感染 SARS 的动物,不过缺乏其它类似研究报道的证实,其是否就是 SARS 的理想动物模型需要进一步评价。此外,受客观条件的限制,猴子不可能在大规模的研究中使用,因此有必要寻找其它更加实用的、小的模型动物。

SARS-CoV BJ-01 株分离自 SARS 病人肺组织,是国内用于 SARS-CoV 致病性、SARS 疫苗研制和药物筛选等研究的主要的候选毒株之一<sup>[6]</sup>。本研究中,我们利用分离的 BJ-01 株人工感染包括食蟹猴在内的 7 个种属的动物,对其作为 SARS 动物模型的可能性进行研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 试剂:**硫酸链霉素、氨苄青霉素和庆大霉素购自华北制药股份公司;两性霉素购自 Amresco 公司;DMEM 培养基购自 Invitrogen 公司;RNeasy Mini kit 购自 Qiagen 公司;AMV 反转录酶购自 Invitrogen 公司;PCR 扩增相关试剂购自 TaKaRa 公司;山羊抗猴 IgG 荧光抗体购自 Bethyl 公司。

**1.1.2 动物:**SARS 血清学阴性的健康小型实验动物 14 只,其中豚鼠 (*Pig guinea*) 2 只、白化黑线仓鼠 (*Albino hamster*) 2 只、黑线仓鼠 (*Hamster*) 2 只、雏鸡 5 只和大鼠 (*Wistar rat*) 3 只。按种属分组饲养于 P3 实验室动物饲养柜中,隔离观察 3d。另外,SARS 血清学阴性的健康雄性恒河猴 (*Rhesus macaques*) 和食蟹猴 (*Cynomolgus macaques*) 20 只,其中恒河猴 6 只,年龄在 3~3.5 岁之间,体重 3~5kg;食蟹猴 14 只,6 只年龄在 3~3.5 岁之间,体重 3~5kg,8 只年龄在

5~6 岁之间,体重 5.3~5.8kg。所有的猴子分开单独饲养于 P3 实验室动物隔离器中,实验条件和设施完全符合非人灵长类动物的保健要求及中华人民共和国卫生部《传染性非典型肺炎病毒的毒种保存、使用和感染动物模型的暂行管理办法》中的相关要求。隔离观察 8d,测定体温、血相及血清抗体等基础生理指标。所有的实验动物均为二级实验动物,全部购自军事医学科学院实验动物中心。

**1.1.3 病毒:**SARS-CoV BJ-01 株,分离自死亡 SARS 病人肺组织,在 Vero-E6 细胞传至第 2 代。Vero-E6 细胞单层接种 SARS-CoV BJ-01,当 50% 细胞出现 CPE 后,将培养基换成无血清的 DMEM。当 CPE 达到 90% 时,收集感染细胞上清,6000r/min 离心 30min,小心收集上清,取适量用于 TCID<sub>50</sub> 滴定,其余分装后置 -70℃ 冻存备用。滴定的病毒液效价为 10<sup>5.7</sup> TCID<sub>50</sub>。

### 1.2 SARS 易感动物的筛选

豚鼠、白化仓鼠、黑线仓鼠、大鼠和雏鸡 5 个种属的小动物,经滴鼻途径分别感染 10<sup>5.7</sup> TCID<sub>50</sub>/mL SARS-CoV BJ-01 株,感染剂量分别为:豚鼠 0.5mL,白化仓鼠 0.2mL,黑线仓鼠 0.2mL,大鼠 0.3mL 和雏鸡 0.2mL。感染后每天详细观察并记录感染动物的临床表现,豚鼠、大鼠每天测体温两次。所有豚鼠、小鼠等感染小动物在感染后第 14 天无痛处死,剖检后进行大体解剖观察,并采集肺脏、脾脏、淋巴结和咽等组织进行组织病理学观察和病毒核酸的检测。

### 1.3 食蟹猴和恒河猴的人工感染

将实验猴分为 6 组,然后每只猴子按 0.15mL/kg 体重的剂量肌肉注射速眠新进行麻醉,随后采集血样用于测定血相和 CD3、CD4<sup>+</sup> 及 CD8<sup>+</sup> 阳性淋巴细胞数量等基础的生理指标,最后经不同的途径感染 SARS-CoV BJ-01 株 (10<sup>5.7</sup> TCID<sub>50</sub>/mL),猴子的分组及感染情况详见表 1。

### 1.4 临床观察和样品的采集

感染后每天详细观察并记录感染猴子的临床表现,除每天测定体温和采集新鲜的粪便外,每间隔两天静脉采血和采集咽分泌物一次,用于进行血相分析及病毒分离培养和核酸检测。

### 1.5 血相和流式细胞计数分析

取适量采集的、感染猴子的新鲜抗凝血,分别利用 CELL-DYN1200 血相分析仪和流式细胞计数仪进行血相指标和 CD3、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 阳性淋巴细胞数量的测定,分析感染猴子血相及外周血淋巴细胞数量

表 1 实验猴的分组及感染情况

Table 1 Grouping and infection of experimental macaques

Group	Macaques	Species	Inoculation route	Inoculation dose ( $10^{5.7}$ TCID <sub>50</sub> /mL)
1	1 <sup>#</sup>	Cynomolgus	Intranasal	1mL
	2 <sup>#</sup>			
	3 <sup>#</sup>			
2	4 <sup>#</sup>	Cynomolgus	Intravenous	1mL
	5 <sup>#</sup>			
	6 <sup>#</sup>			
3	7 <sup>#</sup>	Rhesus	Intranasal	1mL
	8 <sup>#</sup>			
	9 <sup>#</sup>			
1mL	4	10 <sup>#</sup>	Rhesus	Intravenous
	11 <sup>#</sup>			
	12 <sup>#</sup>			
5	T1 <sup>#</sup>	Cynomolgus	Combined intranasal & tracheal	6mL(2mL into the nose and 4mL into tracheal)
	T2 <sup>#</sup>			
	T3 <sup>#</sup>			
	T4 <sup>#</sup>			
	T5 <sup>#</sup>			
	T6 <sup>#</sup>			
Control	Control 1 <sup>#</sup>	Cynomolgus	Combined intranasal & tracheal	6mL of normal cell cultural supernatant (2mL into the nose and 4mL into tracheal)
	Control 2 <sup>#</sup>			

的变化情况。

### 1.6 组织病理学

20 只实验猴中经鼻内或静脉途径感染的 12 只,在感染后 28d 全部无痛处死,而经鼻内和气管内两种途径同时感染的 6 只食蟹猴,从感染后第 4 天开始,每隔 3 ~ 5d 无痛处死一只,对照组的 2 只猴子,分别在感染后第 7、32 天无痛处死。剖检后仔细观察并详细记录各组织脏器的临床病理变化情况。采集肺脏、淋巴结等脏器组织,每种样品分成 3 份。一份用于病毒分离培养和 PCR 扩增,另一份样品置 -70℃ 冻存,以备复检之用,其余样品用福尔马林固定,石蜡包埋制成超薄切片,用苏木素-曙红着色进行光镜观察,或负染后进行电镜观察。

### 1.7 病毒分离

选取部分采集的组织样品,加入适量含 1% 青链霉素、0.2% 庆大霉素和 0.4% 两性霉素的无血清 DMEM 培养基,研磨成为 10% 组织匀浆液,粪便和咽拭子等样品则直接加入适量的含双抗的 DMEM 培养基浸泡并混匀,然后 3000g 离心 30min 得到澄清的匀浆液或浸提液,进一步用无血清的 DMEM 培养基稀释成 1/100、1/1000 和 1/10000,然后接种 24 孔细胞培养板中铺成单层的 Vero-E6 细胞孔中,置 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 下孵育 2d,观察有无 CPE 出现,进行病毒的分离。

### 1.8 病毒核酸的 RT-PCR 检测

取 210 $\mu$ L 采集样品的澄清匀浆液或浸提液,利用 RNeasy Mini kit 提取总 RNA,具体的操作按试剂盒说明进行。然后按照文献[7]报道方法进行 RT-PCR 扩增,检测有无病毒核酸的存在。

### 1.9 SARS-CoV 抗体的检测

将采集的感染后第 14、21 和 28 天的猴血清稀释 10 倍后 56℃ 灭活 30min,然后进行系列稀释,利用间接免疫荧光试验测定血清中 SARS-CoV 特异抗体。具体操作如下:每个稀释度取 10 $\mu$ L 分别滴加到 SARS 病毒抗原片的不同孔上,37℃ 作用 30min,漂洗干净,晾干。每孔加入 10 $\mu$ L 按 1:10 稀释的山羊抗猴 IgG 荧光抗体,37℃ 作用 30min,漂洗干净,晾干。置荧光显微镜下观察有无特异的荧光。

## 2 结果

### 2.1 易感动物的筛选

在 2 周的观察期间,所有 5 个种属的 14 只感染小动物均未出现如高热、呼吸困难等 SARS 特征临床症状。大体解剖所有感染小动物均未观察到任何明显的眼观病理改变。组织病理学方面,感染的小动物中,除感染的豚鼠肺脏出现水肿外,其它动物的组织脏器无任何组织病理损伤。从感染大鼠和豚鼠的肺组织中分别扩增出了病毒核酸,其它感染小

动物组织的扩增结果则均为阴性(图1)。

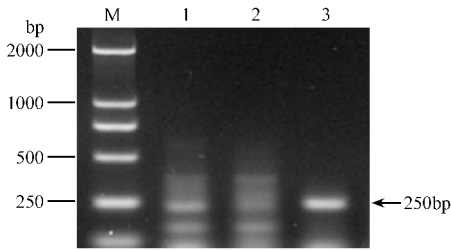


图1 感染豚鼠和大鼠组织样本中 SARS-CoV 核酸的检测结果

Fig.1 Detection of SARS-CoV genomic RNA in tissue specimen from inoculated pig guinea and rat

M. DNA marker ; 1. Lung tissue of inoculated rat ; 2. Pharynx tissue of inoculated pig guinea ; 3. Lung tissues of pig guinea .

## 2.2 感染猴子的临床表现

所有感染的猴子未观察到如高热、干咳和呼吸困难等症状,有 2/3 的恒河猴出现一过性的低热,而所有的食蟹猴的体温均在正常的范围( $\leq 39.5^{\circ}\text{C}$ )内波动(图版 I -A)。

## 2.3 血相和流氏细胞计数分析

部分感染猴子的白细胞和血小板数量从感染后第 3 天起出现一过性的降低,然后逐渐恢复到正常的水平(图版 I -B)。CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 阳性淋巴细胞数量改变不明显。

## 2.4 临床及组织病理学改变

大体解剖方面,感染的猴子中有两只肺部有出血点或出血斑。组织病理学方面,所有的感染猴均出现了不同严重程度的间质性肺炎。典型的病理损伤包括:局部的肺泡间隔增宽,肺泡腔变窄、局灶性出血、水肿。在一些肺泡间隔可见以淋巴细胞为主的小的炎性细胞渗透。肺泡和支气管上皮细胞脱落,在其腔内可见到红细胞。间质性肺炎最早出现在感染后第 4 天,但随后发展缓慢,只有在感染 32d

以后的猴子的肺组织中才能观察到纤维结缔组织轻度的局部增生。对照组的猴子的肺组织均未见异常(图版 I -C)。

## 2.5 病毒的分离

从感染猴子的不同时间、不同类型的样本中均分离到了 SARS-CoV,证明病毒能够在感染猴子体内复制(表 2)。

表 2 部分感染猴子样品的 SARS-CoV 分离的情况

Table 2 Isolation of SARS-CoV from some tissue specimen of inoculated macaques

Macaques	Specimen	Time after inoculation/d	Isolation of SARS-CoV
2 <sup>#</sup>	Lymph node	20	+
	Liver	20	+
	Feces	3	+
3 <sup>#</sup>	Blood	11	+
	11 <sup>#</sup>	Lymph node	27
Feces		3	+
Feces		11	+
12 <sup>#</sup>	Throat swab	17	+
	Feces	3	+
	Feces	6	+
T1 <sup>#</sup>	Throat swab	20	+
	Blood	3	+
T2 <sup>#</sup>	Feces	3	+
T3 <sup>#</sup>	Throat swab	3	+
T6 <sup>#</sup>	Feces	17	+

## 2.6 病毒核酸的 RT-PCR 检测

所有经静脉或鼻内途径感染的猴子在感染 2 周内,可从大部分采集的粪、血和咽分泌物检测到病毒的核酸,而只有 1/3 猴子在感染 2 周后可从其代谢物或分泌物中检测到病毒核酸。经鼻内和气管内途径同时感染猴子从感染后第 3~33 天处死期间,从其组织、分泌物及排泄物中均检测到了病毒核酸(表 3)。

表 3 经滴鼻和气管内途径感染的食蟹猴的不同组织中 SARS-CoV 感染情况的检测结果

Table 3 Detection of SARS-CoV infection in cynomolgus macaques inoculated by combined intranasal and tracheal route

Macaques	Specimen								Time after inoculation/d
	Throat	Blood	Feces	Lung	Lymph node	Spleen	Liver	Kidney	
T1 <sup>#</sup>	-	+	+	+	+	+	-	+	4
T2 <sup>#</sup>	+	+	+	+	+	-	+	-	7
T3 <sup>#</sup>	+	+	-	-	-	-	-	-	12
T4 <sup>#</sup>	+	-	+	+	+	+	-	-	17
T5 <sup>#</sup>	+	-	+	+	+	+	+	+	32
T6 <sup>#</sup>	+	-	+	+	-	+	+	+	35
Control 1 <sup>#</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	7
Control 2 <sup>#</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	32

## 2.7 血清中 SARS 病毒抗体的检测

对仓鼠和大鼠感染后 2 周的血清进行 SARS 抗

体检测的结果均为阳性。感染猴子中除经静脉感染的 6 只在感染后血清抗体效价较低外,其它感染猴

子的感染后第 2、3 和 4 周的血清抗体水平均较高 (图 2)。

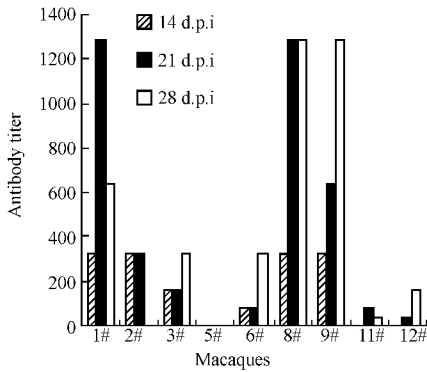


图 2 感染猴子血清中抗 SARS-CoV 特异性抗体的滴度

Fig.2 Antibody titers of the sera from macaques inoculated with SARS-CoV

1 ~ 3 : Cynomolgus macaques inoculated with SARS-CoV intranasally ;  
5 and 6 : Cynomolgus macaques inoculated with SARS-CoV intravenously ;  
8 and 9 : Rhesus macaques inoculated with SARS-CoV intranasally ;  
11 and 12 : Rhesus macaques inoculated with SARS-CoV intravenously .

### 3 讨论

动物模型不仅能够精确地再现病毒、细菌等致病病原引起的疾病的急性和持续感染的病理学,并在传染性疾病的疫苗和药物效果评价以及致病机理的研究中发挥不可替代的作用。理想的疾病模型应具备再现性好、复制率高以及专一性好等特点。猴子是最早报道可成功感染 SARS 的动物,但对于其作为 SARS 动物模型的质量缺乏系统客观的评价。本研究中,我们利用分离自 SARS 死亡病人的 SARS-CoV 毒株对食蟹猴和恒河猴进行了人工感染实验。结果除了在感染猴子发生间质性肺炎这一点上与国内外报道的结果一致外,并未观察到感染猴子出现昏睡、一过性的皮疹及呼吸困难等症状,大体解剖也未见肺脏实变的病理学损伤。因此,从动物模型的标准判断,猴子并不是 SARS 的理想动物模型。不过,在目前没有更理想的动物模型情况下,以间质性肺炎为病理学检查指标,食蟹猴可以作为评价抗 SARS 药物和疫苗的模式动物。感染途径、动物的种属及年龄等也是影响感染结果的重要因素。为了确定不同感染途径是否对 SARS 感染猴子结果产生明显影响,本研究采用了滴鼻、静脉注射和气管内接种等 3 种不同途径对猴子进行感染,对感染后猴子的临床和病理损伤分析比较的结果显示,3 种感染途径中滴鼻和气管内感染途径要比静脉感染的效果要好,而在其它病毒性呼吸系统疾病的动物感染实

验中也通常采用这两种途径,因此,滴鼻和气管内接种可能是呼吸道传染病的普遍的较为有效的途径。有报道认为恒河猴是 SARS 比较理想的动物模型<sup>[8]</sup>。本研究中通过对两种猴子感染 SARS 后的临床及组织病理学比较发现,食蟹猴和恒河猴感染 SARS 后的确有些细微的差异,有 2/3 的恒河猴在接种 SARS 后出现低热症状,但在其它方面则与食蟹猴无任何差异。为了明确年龄是否对食蟹猴感染 SARS 的结果有所影响,研究中我们选择了 3 岁和 5 岁左右的食蟹猴进行感染实验,结果表明猴子的年龄对感染结果无明显影响。这些结果表明,感染途径、剂量、猴子的种属和年龄可能会对 SARS 感染猴子的效果有一些影响,但影响均不明显,因此不是决定性的影响因素。

猴子等大动物模型由于受成本高、隔离设施有限和需要专门设备及人员等因素的限制,排除了其在大规模研究中使用的可能性。而与小动物模型相比较,小动物模型具有以下几个方面的优点,包括成本-效力,在研究中可合并大量的动物,大量感染动物隔离的可行性、短的妊娠和多出生率等,因此更具实际应用价值。尽管 SARS 病毒的储存宿主并不清楚,不过怀疑可能是一种野生动物。血清学和病毒学研究表明,许多动物,包括中国貂獾 (*Melogale moschata*)、果子狸 (*Paguma larvata*) 和 Raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) 均能够感染 SARS 病毒<sup>[9]</sup>。除此之外,对 BALB/c 小鼠、家猫 (*Felis domesticus*) 和雪貂 (*Mustela furo*) 等的人工感染试验表明,这 3 种动物均对 SARS-CoV 易感,其中 BALB/c 小鼠感染 SARS-CoV 后可在其肺脏和肠组织中发现病毒复制,家猫 (*Felis domesticus*) 感染后虽然与 BALB/c 小鼠一样无明显的临床表现,但可以向外排毒,并能够传染与其它健康个体,部分感染的雪貂出现了嗜睡甚至致死的情况<sup>[10,11]</sup>。对这类与人类接触密切的动物对 SARS 的易感性,不仅有可能从中发现更加有用的 SARS 模型,同时还为 SARS 流行病学的研究提供有价值的信息<sup>[12]</sup>。为了找到其它对 SARS-CoV 易感的小动物,本研究中选择了大鼠、仓鼠、豚鼠和鸡等 5 个种属动物进行了 SARS 病毒人工感染,结果表明这些动物对 SARS 不易感,不过从感染大鼠和豚鼠的肺或咽等部分组织中检测到了 SARS-CoV 的特异的核酸,这与小鼠人工感染 SARS-CoV 的结果比较相似,暗示 SARS-CoV 能够在这些动物体内复制,其意义有待进一步的研究分析。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Thiel V , Ivanov K A , Putics A , *et al.* Mechanisms and enzymes involved in SARS coronavirus genome expression. *J Gen Virol* , 2003 , **84** :2305 - 2315.
- [ 2 ] Rota P A , Oberste M S , Monroe S S , *et al.* Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* , 2003 , **300** :1394 - 1399.
- [ 3 ] 陈泳仪, 郑 坚, 王瑞林, 等. 严重急性呼吸综合症的病理改变. *中华病理学杂志* 2003 **32**(3) :279 - 281.
- [ 4 ] 赵景民, 孙艳玲, 周兆德, 等. 传染性非典型肺炎肺脏及免疫器官淋巴细胞亚群分析. *解放军医学杂志* 2003 **28** :27 - 29.
- [ 5 ] Fouchier R A , Kuiken T , Schutten M , *et al.* Koch 's postulates fulfilled for SARS virus. *Nature* , 2003 , **423** :240.
- [ 6 ] Qin E - de , Zhu Qingyu , Yu Man , *et al.* A complete sequence and comparative analysis of a SARS - associated virus( Isolate BJ01 ). *Chinese Science Bulletin* , 2003 **48**( 10 ) : 941 - 948.
- [ 7 ] 邓永强, 姜 涛, 范宝昌, 等. 应用一步和套式 PCR 法检测非典患者标本中的 SARS 病毒核酸序列. *军事医学科学院院刊* 2003 **27**( 3 ) :166 - 168.
- [ 8 ] Feng Yikun. Animal model of SARS develops. available at <http://China.org.cn> , 2003 - 08 - 19.
- [ 9 ] Guan Y , Zheng B , He Y , *et al.* Isolation and Characterization of Viruses Related to the SARS Coronavirus from Animals in Southern China. *Science* , 2003 **302** :276 - 278.
- [ 10 ] Martina B E , Haagmans B L , Kuiken T , *et al.* SARS virus infection of cats and ferrets. *Nature* 2003 , **425** :915.
- [ 11 ] Wentworth D E , Gillim-Ross L , Espina N , *et al.* Mice susceptible to SARS coronavirus. *Emerging infectious disease* . 2004 , **10**( 7 ) : 1293 - 1296.
- [ 12 ] Stephen K C Ng. Possible role of an animal vector in the SARS outbreak at Amoy Gardens , *The Lancet* , 2003 , **362** :570 - 572.

## Study on The Animal Model for Severe Acute Respiratory Syndrome

LIU Bo-Hua<sup>1</sup> WU Dong-Lai<sup>2</sup> ZHAN Da-Wei<sup>3</sup> QIN E-De<sup>1\*</sup> ZHU Qing-Yu<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Microbiology and Epidemiology , AMMS , Beijing 100071 , China )

(<sup>2</sup> Harbin Institute of Veterinary Medicine , CAAS , Haerbin 100051 , China )

(<sup>3</sup> Animal laboratory center , AMMS , Beijing 100071 , China )

**Abstract** : To screen small animals susceptible to SARS-CoV , five species of animals , including guinea pig , hamster , albino hamster , chicken and rat , were experimentally infected with SARS-CoV strain BJ-01 by different routes. On the basis of this , further cynomolgus and rhesus macaques were selected and experimentally inoculated SARS-CoV , the quality they serve as animal model for SARS was evaluated. The results showed that , all five species of small animals chosed were not susceptible to SARS-CoV , no characterized changes in clinical sign and histopathology were observed after infection , but from the lung samples of large rat and pig guinea , the genomic RNA of SARS-CoV could be detected by RT-PCR at day 14 post infection , this suggested that SARS-CoV could replicate in these animals. After inoculated with SARS-CoV , all inoculated cynomolgus and rhesus macaques had developed interstitial pneumonia of differing severity. These changes on histopathology were similar to that seen in SARS patients , but the pathological lesions were less severe than that of human. Except interstitial pneumonia , no other characterized pathological changes were observed. This suggested cynomolgus and rhesus macaques were not the ideal animal model for SARS in fact , but they could serve as animal model for SARS when a more ideal animal model is absent.

**Key words** : SARS , Animal model

Foundation item : Military Scientific Fund for Medicine and Sanitation( 03F003-2 )

\* Corresponding author. Tel 86-10-66948624 ; Fax 86-10-63802193 ; E-mail :Qingyzh@yahoo.com.cn

Other authors : WANG Cui-E<sup>1</sup> , MENG Qing-Wen<sup>2</sup> , PENG Wen-Ming<sup>1</sup> , YIN Xun-Nan<sup>2</sup> , YANG Yin-Hui<sup>1</sup> , GUAN Yun-Tao<sup>2</sup> , HAN Wei-Guo<sup>1</sup> , LI Chang-Wen<sup>2</sup> , LIU Yong-Gang<sup>2</sup> , WANG Mou-Ping<sup>2</sup> , LIU Quan-Gui<sup>2</sup> , SHI Hui-Ying , DING Zhi-Fer( <sup>4</sup>National Vaccine and Serum Institute , Beijing 100024 , China )

Received date : 06-23-2004