

从狗蜱 (*Hemaphysalis campanulata* *hoeppliana*) 分离出嗜神经性病毒*

王潜渊 薛凤举 王植崑

(中国医学科学院微生物学系病毒室)

为了了解自然界的狗蜱是否携带流行性乙型脑炎病毒,在1953年我们曾就北京郊区及城内过冬的狗蜱做分离病毒试验。从采到的狗蜱(*Hemaphysalis campanulata hoeppliana*)和*Rhipicephalus sanguineus*中,未分离出流行性乙型脑炎病毒,但从*H. campanulata hoeppliana*分离出二株能引起白鼯鼠脊髓灰白质炎的嗜神经性病毒。兹将此二株病毒的分离经过及病毒性质的初步观察报告于下。

病毒分离经过

1953年7月初,从北京市城内某学校正常动物房狗舍采集狗蜱 *Hemaphysalis campanulata hoeppliana* 956只。分为数批做分离病毒试验,从其中两批分离出病毒,其中一批用蜱10只,经95%酒精洗涤1次,盐水洗涤3次,加肉汤研磨,离心沉淀后,将上清液接种于10天的白鼯鼠6只(脑内和腹腔两个途径同时接种)。被接种鼠分别于第9日、10日、15日发病死亡。鼠的症状为毛逆立、眼肿胀、软弱、震颤、两后肢有显著的麻痹。将病鼠脑组织悬液加抗生素接种3星期白鼯鼠5只,均于10日左右发病死亡。另一批取蜱12只,按上法制成悬液接种鼠6只,亦均于第9日及第12日发病死亡。症状和前一batch的相似。此二株病原(蜱1和蜱2)在以后的传代中,潜伏期多在10日左右,但亦有长至一个月左右的。接种过这两株病原的鼠脑组织,经细菌培养结果均为阴性。病原体可通过赛氏EK滤板。因此,可确定已分离出的二株使白鼯鼠致病的病原体是病毒。

受感染鼯鼠的组织变化检查

受此二株病毒感染而发病的白鼯鼠,其脑脊髓组织的病理学变化(图1,2,3),以脊

* 1956年5月22日收到。

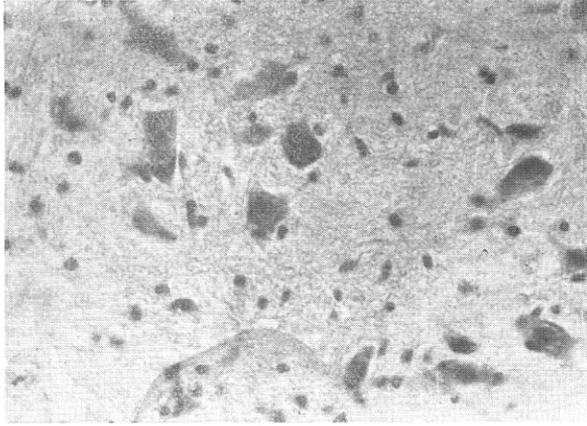


圖 1 脊髓前角病变

脊髓前角神經細胞胞漿不正常，神經細胞核破碎，有的神經細胞已溶解消失，只剩下痕迹。同時還可見神經細胞吞噬現象。

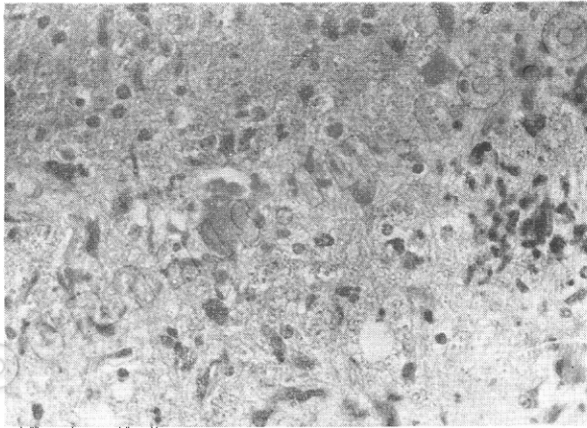


圖 2 延髓下段病变

延髓下段神經細胞膨脹，胞漿呈不正常染色，并有炎症細胞浸潤現象和神經細胞吞噬現象。

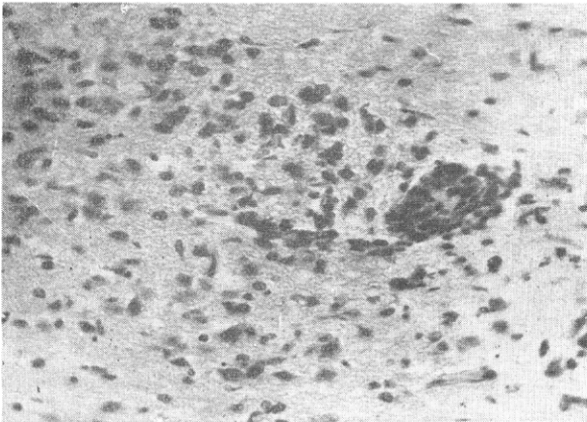


圖 3 大腦病变

大腦中呈現炎症細胞血管性浸潤，并有膠質細胞增殖現象。

髓前角及延髓下段神經細胞的变性、吞噬和消失現象为主要，而腦的变化輕微。神經細胞內未發現包涵体，未見坏死或髓鞘消失的病灶，也無神經膠質小节。

动物感染試驗

这两株病毒接种于 3 星期白鼯鼠腦內，病毒的滴度(用 50% 致死量計算)可达 10^{-7} 至 $10^{-5.7}$ (見表 1, 甲)。腦及脊髓二种組織內病毒量的滴定比較，脊髓內病毒的滴度并不較腦組織內的病毒滴度为高。为了了解病毒在鼠腦內什么时候滴度最高，我們也曾在

表 1(甲) 犬蜱病毒接种白鼯鼠腦內滴定結果

編 号	病 毒		稀 釋 度					50% 死亡稀釋度
	通过鼠腦代数	所用組織	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	
蜱 ₁	3	腦	2/5	3/5	0/5	0/5	0/5	$10^{-3.5}$
	4	腦	4/5	5/5	3/5	0/5	0/5	10^{-4}
	6	腦	4/5	4/5	3/5	0/5	0/5	$10^{-4.1}$
	7	腦	—	0/5	3/5	0/5	0/5	$>10^{-2}$ $<10^{-9}$
	7	脊 髓	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5	$10^{-3.1}$
	8	腦	5/5	3/5	2/5	3/5	0/5	10^{-4}
蜱 ₂	4	腦	4/5	5/5	5/5	1/5	0/5	$10^{-4.5}$
	6	腦	3/5	5/5	4/5	2/5	0/5	$10^{-4.4}$
	7	腦	5/5	4/5	1/5	0/5	0/5	$10^{-3.5}$
	7	脊 髓	—	4/5	1/5	0/5	1/5	$10^{-3.5}$
	8	腦	5/5	3/5	5/5	3/5	0/5	$10^{-5.7}$

表 1(乙) 蜱₂ 病毒接种白鼯鼠后，在潜伏期不同時間，滴定腦組織病毒結果

接种病毒后致滴定时之日数	50% 死亡稀釋度
1	$<10^{-2}$
2	$<10^{-2}$
4	$10^{-2.2}$
6	$10^{-3.4}$
8	$10^{-3.6}$
9*	$10^{-3.5}$

* 动物已發病呈現症狀。

潜伏期的不同时间滴定病毒(表1,乙)。结果在接种后的第4天,病毒滴度才能达 10^{-1} 以上,第6天达 10^{-3} 以上,直到第9天,即动物发病呈现症状时,滴度没有显著的变化。

此二株病毒对本院所繁殖的白鼯鼠(3个星期左右鼠龄)脑内接种,容易感染,鼻腔接种亦可能感染(感受性低),腹腔接种感染情形不定,皮下、皮内、肌肉接种不呈感染症状。在啮齿动物,除白鼯鼠外,脑内接种豚鼠可感染发病。家兔受感染后仅见体温稍有升高,未见其他症状。本地的田鼠不受感染。

血清免疫学试验

经交互免疫试验证明此二株病毒有交互免疫力(表2),免疫指数达525—1000。

用流行性乙型、圣路易型、马脑脊髓炎西型、春夏型等脑炎病毒的标准免疫血清与此二株病毒进行中和试验,结果均为阴性(表3)。用正常人血清(4份),正常狗血清(3份混合)与此种病毒进行中和试验,未查出对此二株病毒的中和抗体(表4)。

表2 蟬病毒与鼠脊髓灰白质炎病毒FA株及淋巴球性脉絡叢腦膜炎病毒交互免疫试验结果

免疫鼠	测验免疫力所用病毒	免疫指数
蟬 ₁	蟬 ₁	525
蟬 ₁	蟬 ₂	1000
蟬 ₁	FA	1.9
蟬 ₂	蟬 ₂	1000
蟬 ₂	蟬 ₁	525
蟬 ₂	FA	1.9
FA	蟬 ₂	2.8
FA	FA	>46800
蟬 ₁ 和蟬 ₂	淋巴球性脉絡叢腦膜炎	-2.6

表3 蟬病毒与抗腦炎血清及抗蟬₂血清中和试验结果

免疫血清	病毒	中和指数
抗乙型腦炎(京衛研,株)	乙型腦炎(京衛研,株)	610,000
抗乙型腦炎(京衛研,株)	蟬 ₁	6.9
抗乙型腦炎(京衛研,株)	蟬 ₂	4.3
抗聖路易型腦炎	聖路易型腦炎	742
抗聖路易型腦炎	蟬 ₁	1.4
抗聖路易型腦炎	蟬 ₂	2.5
抗馬西型腦脊髓炎	馬西型腦脊髓炎	87,100
抗馬西型腦脊髓炎	蟬 ₁	8
抗馬西型腦脊髓炎	蟬 ₂	3.3
抗春夏型腦炎	春夏型腦炎	56,000
抗春夏型腦炎	蟬 ₁	1.4
抗春夏型腦炎	蟬 ₂	-2.1
抗蟬 ₂ *	蟬 ₂	31.3

* 由皮下、腹腔、腦內、腦內分別4次接種病毒,經二個月后取血的高度免疫鼠血清,

表 4 蜱病毒与正常人及动物血清中和試驗結果

血 清	病 毒	中和指数	血 清	病 毒	中和指数
正常人 1	蜱 ₁	2.1	正常人 1	蜱 ₂	8
正常人 2		2.1	正常人 2		5.4
正常人 3		1.4	正常人 3		8
正常人 4		1.4	正常人 4		7.8
正常鼯鼠*		3.2	正常鼯鼠*		-2.6
正常犬**		4.0	正常犬**		1.6

* 本院动物房 20 只老鼯鼠血清混合。

** 本市的 3 只犬血清混合。

用此种病毒与鼠脊髓灰白質炎病毒(FA 株)及淋巴球性脉絡叢腦膜炎病毒进行交互免疫試驗, 証明無交互免疫关系(表 2)。

討 論

此二株病毒經試驗观察, 有完全的交互免疫能力, 証明为同一种病毒。

从动物感染試驗及病变观察, 这种病毒与鼠的脊髓灰白質炎(鼠腦脊髓炎)病毒的性質有些相似^[1]。例如人工接种嗜齒动物可以感染, 免疫注射后抗体产生緩慢而且效价不高, 鼠接种后病毒滴度不高, 潜伏期較長, 發病的症狀以后肢麻痹为特征, 病变以脊髓前角为显著等。但是此种病毒与鼠脊髓灰白質炎病毒 FA 株無交互免疫关系。根据 Theiler 氏报告^[2], 鼠脊髓灰白質炎病毒 FA 株与 GDVII 株有交互免疫关系。因此, 这种病毒与已知的鼠脊髓灰白質炎病毒不同。

另外, 鼠也可携帶淋巴球性脉絡叢腦膜炎病毒, 因此, 我們也注意了此病毒与淋巴球性脉絡叢腦膜炎病毒的关系。經試驗証明此种病毒与淋巴球性脉絡叢腦膜炎病毒亦無交互免疫。

我們也曾考虑到本院正常动物房的白鼯鼠是否携帶有这种病毒, 于是經过研究分析: (1) 我們的分离病毒試驗做了 234 批, 共用鼠 1400 余只, 仅有这两批分离出病毒, 同时就 234 批試驗中的 53 批进行盲目傳代至第三代, 共用鼠 600 余只, 未曾分离出任何病毒。如果此种病毒为正常白鼯鼠所携帶者, 那么在分离病毒接种及其盲目傳代中是很有可能分离出更多株病毒的。(2) 这两批狗蜱悬液在第一代接种鼠时, 12 只鼠全数發病, 分离出病毒。并且將正常鼠和病鼠共同飼养, 不發生接触感染。这說明第一代

接種鼠全數發病不是由於接觸感染的結果。(3)本院動物房的正常老齡鼠經此二株病毒腦內注射，亦均能被感染。取正常老齡鼠血清(20份混合)與此二株病毒進行中和試驗，也未查出有對這種病毒的中和抗體。根據以上三方面的研究分析，我們認為這種病毒不是本院正常實驗鼠所攜帶的，而是從狗蜱 *H. campanulata hoeppliana* 分離出來的一種可引起白鼯鼠發生脊髓灰白質炎的病毒。

此種嗜神經性病毒經血清中和試驗證明與人的腦炎病毒流行性乙型、聖路易型、春夏型、馬腦脊髓炎西型等均無免疫關係。從中樞神經的組織切片檢查，我們未發現 Negri 氏包涵體，從受染鼠的潛伏期很長以及后肢麻痺的症狀觀察，也不是狂犬病毒。它可能是一種新的嗜神經性病毒。

摘 要

1953年在北京從狗蜱 *Hemaphysalis campanulata hoeppliana* 分離出二株嗜神經性病毒，經免疫學證明此二株為同一種病毒。此種病毒經接種于白鼯鼠可引發脊髓灰白質炎。

此種病毒與腦炎日本乙型、聖路易型、春夏型、馬腦脊髓炎西型的標準免疫血清無交互中和反應，與鼠腦脊髓炎 FA 株及淋巴球性脈絡叢腦膜炎亦無交互免疫。

根據多種試驗進行分析研究，我們認為這種病毒是從狗蜱 *Hemaphysalis campanulata hoeppliana* 分離出來的可使白鼯鼠發生脊髓灰白質炎的病毒。經我們用實驗室保存的人的和鼠的標準病毒鑑定，這種病毒可能是一種新的嗜神經性病毒。

本報告中關於組織學檢查部分，承本院病理室予以協助，特此致謝。

參 考 文 獻

- [1] Theiler, M.: *J. Exp. Med.* 65: 705, 1937.
- [2] Theiler, M. and Gard, S.: *J. Exp. Med.* 72: 49, 1949.

ISOLATION OF A NEUROTROPIC VIRUS FROM DOG TICKS *HEMAPHYSALIS CAMPANULATA HOEPLIANI*

WANG CHIENG-YUAN, HSÜEH FENG-CIU AND WANG CHI-LUN

Since 1953, in an attempt to isolate epidemic encephalitis virus from the dog ticks during a continuous epidemiological study of the disease, 2 strains of apparently unknown virus with neurotropic properties were found. Both were isolated from the dog tick, *Hemaphysalis campanulata hoepliana*, by inoculation of the latter intracranially into white mice, in which a disease picture of poliomyelitis was produced. While these two strains were found to be antigenically identical, they were entirely unrelated to the following neurotropic viruses: Japanese B, St. Louis, Russian Spring-Summer, Western Equine, mouse encephalitis FA, and choriomeningitis viruses. It was concluded that they represent a new type of virus normally inhabitant of the dog tick concerned.