

五株仙台病毒血凝性状的差异

孙 望 楚

(卫生部药品生物制品检定所, 北京)

自从 Kuroya 等氏^[1]于 1952 年首次发现仙台病毒以来, 许多日本、苏联、中国和罗马尼亚作者又分别自人和小白鼠、猪、大白鼠、田鼠、中国地鼠及豚鼠等动物中分离了这种病毒^[2-7]。这些毒株除了基本的共性以外, 尚显有某些生物学性状的差异(如溶血性能^[6], 使某些组织培养细胞形成多核巨细胞的能力^[7], 对小白鼠的致病性^[2,7], 对某些非特异性血凝抑制素的敏感性^[7], 以及与第二型血球吸附病毒的交叉补体结合反应性等^[7])。笔者于 1958 年曾将取自豚鼠的 GPD₁ 株和 GPD₂ 株^[4]、从小白鼠分离到的 EMV 株^[3]和 TmL 株以及自符拉迪沃斯托克(海参威)流感患者分离到的苏 D 株^[9]等仙台病毒进行了血凝性状的比较, 发现不同毒株之间的血凝性状也有所不

同, 现将试验结果作一简报。

1. 在三种不同温度下与八种血球的凝集反应

将鸡、小白鼠、猴、人以及鸽、豚鼠、大白鼠、羊等八种血球的 0.5% 悬液, 按总量为 1 毫升的常规法分别与 5 株仙台病毒的鸡胚尿囊液作血凝试验。在每株病毒-血球的组合中又分成 3 小组, 各置 4°—8°C 冰箱, 室温(20°—22°C 或 26°—28°C)及 35°C (或 36°C) 孵箱中, 于 45 分钟(鸡和鸽血球)及 90 分钟后记录结果, 从而察见 5 株病毒对鸡、豚鼠、大白鼠、小白鼠、人等血球一般都有较好的凝集反应。羊血球只在 4°—8°C 条件下出现阳性结果, 另从表 1 可知取自不同来源的毒株尚具有下列之差异:

1. GPD₁ 和 GPD₂ 二豚鼠毒株在三种温度下均

表 1 五株仙台病毒对四种动物血球的凝集作用

病毒	試驗次數		溫 度		血 球		1						2					
							4°—8℃		20°—22℃		35℃		4°—8℃		26°—28℃		36℃	
							雞	猴	雞	猴	雞	猴	鴿	豚鼠	雞	鴿	豚鼠	雞
EMV	1280	320	1280	160	1280	<10	320	960	480	140	640	20	640					
TmL	1280	160	1280	160	640	<10	120	160	320	40	160	30	160					
苏D	640	<10	640	<10	640	<10	640	1920	960	560	1280	60	320					
GPD ₁	320	40	320	20	320	10	30	50	480	<10	120	<10	160					
GPD ₂	320	80	320	80	320	80	160	240	640	30	1280	15	1280					

能与猴血球发生凝集反应, 苏 D 株则缺如(<10), EMV 和 TmL 二小白鼠毒株在 4°—8°C 和 20°—35°C 时有血凝反应, 35°C 时则为阴性(<10)。

2. GPD₁ 和 GPD₂ 二豚鼠毒株与豚鼠血球的

本文 1963 年 1 月 11 日收到

凝集价在 36°C (各为160及1280)显著高于 $4^{\circ}\text{—}8^{\circ}\text{C}$ 所测得者(各为50及240)。苏D株则呈相反之趋势(36°C 时之凝集价为320, $4^{\circ}\text{—}8^{\circ}\text{C}$ 时为1920), EMV和TmL二小白鼠毒株在这二种温度下所得之结果无显著差别。

3. 豚鼠毒株在 $26^{\circ}\text{—}28^{\circ}\text{C}$ 及 36°C 时与鸽血球之凝集价很低(30—15,如GPD₂株)或 <10 (如GPD₁株),苏D株则获得了良好的结果($26^{\circ}\text{—}28^{\circ}\text{C}$ 时为560), EMV株和TmL株之结果介于二者之间。

II. 振荡对血凝试验的影响

在记录上述各组血凝试验结果后,将全部试

管重新振荡一次,再观察结果,如此反复振荡3—6次,除察见各毒株-血球的凝集价随多次振荡而逐渐下降的一般规律以外,尚发现了某些不一致现象,如在 $4^{\circ}\text{—}8^{\circ}\text{C}$ 对羊血球的试验中,EMV株的凝集价在第二次振荡后即迅速消失(<10 ,原为1920),GPD₂, TmL和苏D三毒株的血凝反应也随多次振荡而继续下降或消失,但GPD₁株自第一次振荡时由原来之2560降为320后,在重复的5次振荡中均保持原状而不再下降,另在豚鼠血球的试验中($26^{\circ}\text{—}28^{\circ}\text{C}$),苏D株之凝集价随振荡而显著减弱,GPD₁, GPD₂和TmL三毒株则有所增长(见表2)。

表2 振荡对五株仙台病毒血凝反应的影响

病毒	血球及温度 振荡次数		羊($4^{\circ}\text{—}8^{\circ}\text{C}$)					豚鼠($26^{\circ}\text{—}28^{\circ}\text{C}$)			
			0	1	2	3	4—6	0	1	2	3
EMV			1920	480	<10	<10	<10	640	640	1120	160
TmL			280	280	180	120	<10	160	200	280	640
苏D			2560	640	320	20	20	1280	1280	320	120
GPD ₁			2560	320	320	320	320	120	160	240	1280
GPD ₂			480	320	320	<10	<10	1280	1920	1920	2560

表3 五株仙台病毒经不同温度、不同时间处理后的血凝效价(鸡血球)

病毒	试验次数 温度 时间		1						2				3			
			48 $^{\circ}\text{C}$			46 $^{\circ}\text{C}$			44 $^{\circ}\text{C}$				42 $^{\circ}\text{C}$			
			未处理	10分	20分	10分	20分	30分	未处理	1小时	2小时	3小时	未处理	1小时	2小时	3小时
EMV			4000	10	10	1280	20	<5	1600	640	160	80	1600	1600	800	800
TmL			800	40	20	160	40	40	800	160	<10		800	800	400	400
苏D			4000	10	10	≥ 1280	40	10	1600	320	20	<10	1600	400	50	20
GPD ₁			3000	120	<5	320	10	<5	400	<10	<10		800	400	100	40
GPD ₂			6000	640	20	640	160	20	800	80	<10		1600	800	50	20

III. 血凝素的耐热性

五株病毒(鸡胚尿囊液)经 56°C 5分、 50°C 10分、 48°C 20—30分、 46°C 30—40分钟处理后,其血凝效价均完全消失或极度下降,但在加温时间较短或温度较低的情况下,则显示了下列之差异(见表3)。

1. GPD₂株和TmL株之血凝素对 48°C 10分钟和 46°C 20分钟加热的耐受性较强,此时GPD₂

株仍分别保持着640及160之效价(原为6000), TmL株为40(原为800) EMV和苏D二毒株保存之滴度仅为原有之 $\leq 1\%$ (由4000降为10—40)。

2. 在 44°C 加温2—3小时后EMV株仍分别保持着160及80之血凝效价(原为1600),其他毒株的血凝反应均于2小时后完全消失或极度下降。

3. 在 42°C 处理的情况下,EMV和TmL二小

白鼠毒株血凝素的耐热性显著强于另三株病毒，即其血凝效价在加温 1 小时后无改变（另三株病毒则发生了 1—2 倍的下降），3 小时后仅下降 1 倍（另三株病毒则下降了 20—80 倍）。

IV. 对鸡血球的吸附和释放性能

1. 对不同浓度的鸡血球的吸附作用：将五株病毒的鸡胚尿囊液分别与 20%、16%、12%、8% 及 4% 等各种不同浓度的鸡血球悬液作等量混合，置 2°—4℃ 冰箱内，每 30 分钟振荡一次，2 小时后作离心沉淀，取上清液测定血凝效价。从表 4 可知 8% 鸡血球即可吸附 98—96% 的苏 D 株、TmL 株及 EMV 株血凝素，90% 之 GPD₁ 株血凝

表 4 五株仙台病毒经不同浓度的鸡血球吸附后，其上清液所残留之血凝效价

毒株	血球浓度 原效价	20%	16%	12%	8%	4%
EMV	4000	7.5	15	80	160	320
TmL	400	<5	5	10	10	20
苏 D	4000	<5	<5	10	80	160
GPD ₁	800	30	40	60	80	160
GPD ₂	1500	160	320	320	480	≥1280

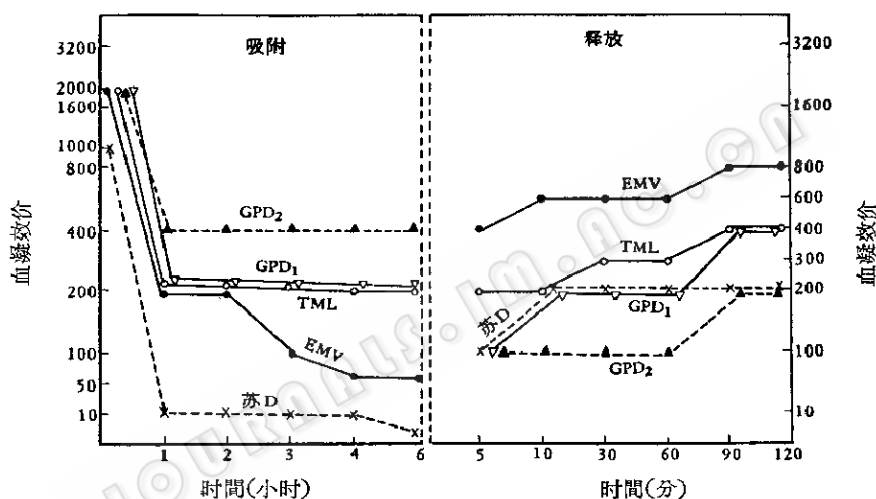


图 1 五株仙台病毒与鸡血球的吸附和释放曲线

素，GPD₂ 株之结果最差——仅吸附 32%。

2. 对 10% 鸡血球的吸附和释放曲线：吸附曲线系将病毒和等量的 10% 鸡血球置 2°—4℃ 冰箱内吸附 1、2、3、4、6 小时后，各取出一管作离心沉淀，测定其上清液之血凝效价而求得。在测定释放曲线时系将病毒分别与 10% 鸡血球悬液置 2°—4℃ 冰箱吸附 2 小时后，作离心沉淀，吸取上清液留作血凝试验，并用生理盐水洗涤血球，再沉淀一次，继在沉下之血球加入生理盐水至原量，混匀后，每毒株各分装 6 小管，置 37℃ 水浴中，于 5、10、30、60、90 及 120 分钟时各取出一管离心沉淀，测定其上清液血凝效价。从图 1 可知苏 D 株对鸡血球的吸附性能最佳，EMV 株次之。EMV 株之释放性能最佳，GPD₂ 株之结果最差。就作用时间而论，EMV 株在 3—4 小时仍有继续吸附

之迹象，另 4 株病毒则在 1 小时内达吸附之高峯，GPD₁、GPD₂ 和 EMV，TmL 等毒株之释放作用在 90 分钟时仍有所进展，苏 D 株则在 10 分钟后即未有进一步释放现象。

参 考 文 献

- [1] Kuroya, M., Ishida, N.: *Yokohama med. Bull.* 4: 217. 1953.
- [2] Zhdanoff, V. M. et al: *Acta Virologica.* 1: 216, 1957.
- [3] 朱既明: 中华医学杂志, 44: 117, 1958.
- [4] 孙望楚等: 微生物学报, 8: 129, 1960.
- [5] Tarchita D. et al.: *Bull. Hyg.*, 36: 1041, 1961.
- [6] Ho Yun-De: *Acta Virologica.*, 6: 114, 1962.
- [7] Ho Yun-De: *J. Hyg. Epid. Microbiol. et. Immunol.* VI, 2: 154, 1962.
- [8] Гернгросс О. Г.: *Бонп. Вурис.*, 2: 77. 1957.