

亚洲甲型流感病毒的相的研究

I. 相的变异

王植伦 薛凤举

(中国医学科学院病毒学研究所, 北京)

亚洲甲型流感病毒由于对特异性抗体的亲和性和对非特异性抑制素的敏感性不同, 在病毒株之間存在着相的区别, 这是国内外研究工作者所一再描述过的^[1-6]。病毒株之間的相的不同并不反映其抗原结构有何差异^[5,7]。根据流感病原学的资料^[8,9], 虽然近年来分离到的亚洲甲型流感病毒的抗原结构和1957年大流行时的毒株基本一致, 但在相别上, 1957年所分离的毒株中对抑制素敏感的与不敏感的毒株数几乎相等, 在以后几年中对抑制素敏感的毒株逐年增多, 近来不敏感性毒株的出现甚少。同时, 在实验室条件下, 毒株的相别发生改变的事例也不少见^[10,11]。由此可见, 亚洲甲型流感病毒的相别是颇易改变的, 而改变与否的标志又易于识别, 因此, 对亚洲甲型流感病毒的相的变异进行研究, 不但可澄清一些有关亚洲甲型流感病毒的相别的本质问题, 而且也有助于对流感病毒变异的理解。

我们曾就亚洲甲型流感病毒对抗体的亲和性与对非特异性抑制素的敏感性是否一致, 病毒株“相”的改变是一个选择、淘汰的过程还是变异的结果等问题进行了研究, 本文报告这些研究的结果。

一、材料与方法

病毒 本实验中所使用的毒株是1957—1962年间从我国各地分离的亚洲甲型病毒, 除文内另加注明者外, 均是按标准传代法接种鸡胚尿囊后收获的尿囊液病毒。

血球 选择对病毒有同等敏感度的澳洲黑鸡或来航鸡以枸橼酸钠为抗凝剂取血, 以无菌生理盐水洗涤三次, 配制成1%血球悬液。

牛血球是取自出生后两个月以内的小牛。小白鼠血球则取自3—4周龄的小白鼠, 洗涤及配制血球悬液的方法同鸡血球。

鸡胚 病毒传代均使用购自本市孵化场的9—11天龄的来航鸡胚。

动物 三周龄的小白鼠, 系本院动物房繁殖饲养的瑞士种。华北地鼠 (*Cricetulus griseus*) 是购自北京近郊农村。

正常马血清 用作非特异性 γ 抑制素。系卫生部生物制品研究所赠与。经56°C加温30分钟后保存于4°C冰箱备用。全部实验共使用两批马血清, 其抑制滴度相同。

鸡免疫血清 用亚洲甲型流感病毒京防61-6株(敏感相)免疫来航鸡而得, 对本株病毒的血球凝集抑制滴度为1:5120。

标准传代 鸡胚尿囊液病毒作 10^{-3} 稀释后按每个鸡胚 0.2 毫升接种尿囊，在 36.5°C 孵育 44—48 小时，置 4°C 冰箱过夜，然后收获含病毒的尿囊液。如病毒的滴度过低（血球凝集滴度在 1:80 以下）时则以 10^{-2} 稀释传代。

终末稀释传代 以病毒稀释至接种鸡胚尿囊后仅使部分鸡胚受染的浓度传代，每个鸡胚接种量及病毒的收获手续同上。

病毒对抑制素的敏感性的测定 以经 56°C 加温 30 分钟的正常马血清（ γ 抑制素）与病毒进行血球凝集抑制试验，被马血清抑制者表示对抑制素敏感，反之则否。

鸡胚内中和试验 亚洲甲型流感病毒的血凝是否为 γ 抑制素所抑制与该病毒在鸡胚中是否为正常马血清所中和有密切联系。根据这一特性，在本工作中充分利用鸡胚内中和试验来判定某一毒株内是否含有两种不同相别的病毒颗粒，以及两者的比例如何？鸡胚尿囊液病毒从 2×10^{-1} 开始按 10 倍系列稀释，选取几个适宜的稀释度的病毒加入等量的正常马血清，混合后置室温 30—40 分钟，然后每稀释度接种鸡胚 4 只，置 36.5°C 孵育 48 小时，收获尿囊液测其血球凝集。血球凝集反应阳性者认为有病毒存在，反之则否。按 Reed 和 Muench 法^[12]计算出试验组的半数鸡胚感染量（ EID_{50} ）。对照组以 pH7.4 的肉汤代替正常马血清，操作方法与试验组同。

如试验组的 EID_{50} 比对照组有显著降低，但中和后仍出现血凝阳性的鸡胚，其尿囊液病毒经血球凝集抑制试验证明对抑制素不敏感时，认为此一毒株是含有对抑制素敏感的和 insensitive 的两种病毒颗粒，以试验组与对照组的 EID_{50} 之比作为对抑制素不敏感与敏感的病毒颗粒量之比。

如果试验组与对照组的鸡胚感染滴度无差别，则认为该毒株内所含完全是或绝大部分是对抑制素 insensitive 的病毒颗粒。以抑制素中和后再终末分离的病毒应不再含有敏感相的颗粒，此类毒株在文内称为“纯不敏感相”毒株。

如果对抑制素敏感的病毒株，即使以不稀释的病毒悬液与等量正常马血清混合后接种鸡胚也被完全中和时，表示该株病毒仅含有对抑制素敏感的病毒颗粒，此类毒株，在文内称为“纯敏感相”毒株。

动物感染 小白鼠及华北地鼠均在轻度乙醚麻醉下从鼻腔滴入病毒，小白鼠的感染量为 0.05 毫升，华北地鼠为 0.2 毫升，感染后 $3\frac{1}{2}$ 天放血致死，剖取肺脏及气管，以无菌生理盐水洗涤后在乳钵研磨，制成 20% 的悬液传代或转种鸡胚后再感染动物。

血球凝集及血球凝集抑制试验 大部分试验以常规量在有凹洞的塑料板上进行，部分试验则采用微量塑料板法^[13]。

二、实验结果

1. 亚洲甲型流感病毒株对抗体的亲和性与对抑制素的敏感性的关系

在亚洲甲型流感流行初期，不少作者^[1,2,14]认为病毒株对抗体的亲和性与对抑制素的敏感性之间存在着一致关系，即对抗体亲和性高的毒株对抑制素也敏感，反之亦然。稍后的报告表明：病毒的亲和性与敏感性之间并无直接联系^[5]；有些毒株虽同样地对抗体高度亲和，但其中一些对抑制素敏感，另一些则不敏感^[15]；同样对抑制素不敏感的毒株，有些对抗体的亲和性高，有些则亲和性低^[16]。澄清这个关系，肯定有助于了解亚洲甲型流感病毒相的特征，因此，我们首先进行试验，以探讨亚洲甲型病毒的亲和性和敏感性有无平行一致的关系。

随意采取自 1957—1962 年间在北京、长春、内蒙、兰州、广西等地分离的亚洲甲型病毒 16 株，分别以亚洲甲型鸡免疫血清（抗体）和正常马血清（ γ 抑制素）进行血球凝集抑制试验，结果见表 1。由表 1 可见，在试验的 16 株病毒中有 9 株对抑制素及抗体均高度敏

感。在 3 株对抑制素有中等度敏感性的病毒中，两株对抗体的反应也呈现中等度的亲和性，但其余一株（京防 61-7）对抗体的亲和性却甚高。在对抑制素不敏感的 4 株病毒中，除一株（兰生 60-2）对抗体的亲和性亦很低外，其余 3 株却具有中等度的抗体亲和性。由此看来，对抑制素敏感的毒株基本上对抗体也敏感，但其亲和性的高低显然有所不同。对

抑制素不敏感的毒株中有些对抗体的亲和性很低，有些则仍有相当程度的亲和性。

2. 从亚洲甲型流感病毒株分离纯敏感相及纯不敏感相病毒颗粒

为了进一步了解亚洲甲型病毒的相别变异机制，我们曾随意采取数株病毒以固定马血清浓度、稀释病毒的方法作中和试验来分离不敏感相病毒颗粒，并用终末稀释法来分离敏感相病毒颗粒。

(1) 从敏感相病毒株中分离出纯敏感相及纯不敏感相病毒颗粒——京科 58-24 株鸡胚 6 代

（简称 E₆，其它株亦同）病毒，对抑制素是敏感的。以加温 56℃30 分钟的正常马血清中和后，仍有部分病毒能繁殖，由其中再分离出的病毒即对马血清的血球凝集抑制作用不敏感。此种对抑制素不敏感的病毒颗粒，在无马血清存在的情况下，连续以标准传代法在鸡胚尿囊通过 10 代，每代收获的尿囊液病毒以马血清作血球凝集抑制试验定相，对抑制素仍不敏感。将第 10 代病毒材料（京科 58-24 E₆ HS₁ E₁₀）用马血清作鸡胚内中和试验，也表明马血清对之不能中和。故此种由敏感相毒株分离出来的纯不敏感相病毒颗粒甚为稳定。

将上述的京科 58-24 原株用终末稀释法连续在鸡胚内传 4 代，再以正常马血清作中和试验，即使接种不稀释的病毒悬液也完全被马血清所中和，这说明用终末稀释传代所获得的病毒颗粒已为纯敏感相。此后改用标准传代法在鸡胚通过 5 代，再以马血清中和，结果不稀释及 10⁻¹ 的病毒均为马血清所中和，表明仍为纯敏感相，这也说明用终末稀释法分离出来的纯敏感相病毒颗粒也很稳定。

根据中和试验的结果，京科 58-24 E₆ 病毒株中含有两种不同相别的病毒颗粒，敏感相与不敏感相的比例大约为 100:1 (10⁷:10⁵)。

用同样的方法，从另外一株敏感相病毒株兰生 62-1 (E₇) 中亦分离出不敏感相病毒颗粒，在无马血清存在情况下连续在鸡胚内传 5 代，其血凝素仍保持对马血清的不敏感性。

(2) 一些敏感相病毒株仅含敏感相病毒颗粒——为了进一步了解是否所有敏感相病

表 1 亚洲甲型流感病毒对抑制素的敏感性和对抗体的亲和性比较			
毒 株			正 常 马 血 清
			京防61-6株鸡免疫血清
京科 62-1	E ₇	6400	5120
桂防 62-3	F ₁₆	5120	5120
桂防 62-11	F ₁₀	5120	5120
兰生 62-1	F ₇	5120	2560
桂防 62-14	E ₁₂	4480	5120
京防 61-6	E ₁₁	3200	5120
长生 61-9	E ₈	3200	5120
京防 61-8	E ₁₀	3200	2560
京防 61-1	E ₁₀	1920	2560
京科 61-1	F ₉	640	320
京防 61-9	E ₉	400	640
京防 61-7	F ₁₀	240	5120
长生 57-14	E ₂₀	<10	640
京科 59-7	F ₉	<10	320
蒙防 62-1	F ₉	<10	140
兰生 60-2	F ₁₀	<10	20

毒株均含有两种相别的病毒颗粒,曾随意取 6 株敏感相病毒用马血清进行中和试验,除一株(兰生 62-1)含有不敏感相病毒颗粒外,其余 5 株(京防 61-6 E₉, 京防 61-7 E₉, 京科 62-1 E₆, 桂防 62-11 E₉, 桂防 62-12 E₉) 均未发现含有不敏感相病毒颗粒。

(3) 未能从不敏感相病毒株中分离出敏感相病毒颗粒——我们曾用马血清对兰生 60-2 E₈, 长生 57-2 E₉, 京科 57-19 E₉, 长生 58-9 E₉ 等 4 株不敏感相病毒进行中和试验,试验组与对照组的鸡胚感染滴度无显著差别,表明这些毒株完全是或绝大部分是不敏感相病毒颗粒。对这些不敏感相病毒株,用小白鼠血球吸附 3 次后(企图将不敏感相颗粒大部分除去,以便显示出敏感相颗粒),传代所获得的病毒,仍属不敏感相。

3. 在抑制素的作用下纯敏感相病毒变为不敏感相病毒

如上所述,一些亚洲甲型毒株同时含有敏感相及不敏感相两种病毒颗粒,另一些毒株则仅含有敏感相或不敏感相病毒颗粒。在前一种情况下,亚洲甲型的相别无疑地可由于内含不同相别的颗粒比例来决定,当比例发生改变时,就会表现出相的改变。纯属敏感相的病毒株可否通过实验室方法使其发生变异呢?为此,我们进行了下列的实验。

(1) 在马血清作用下纯敏感相病毒发生相的变异——随意采取经中和试验证明为纯敏感相的京防 61-6 (E₉) 及桂防 62-11 (E₉) 病毒株,用固定病毒量分别和不同稀释度的正常马血清混合后在鸡胚传代。京防 61-6 在第一次与马血清混合后传代时,1:10 稀释的马血清可以完全中和病毒繁殖,收获尿囊液后在鸡胚盲传代,也未发现有病毒繁殖;1:40 稀释的马血清即不能抑制病毒繁殖。第 2 代时,病毒已能耐受 1:10 稀释的马血清的中和,但病毒对马血清的血球凝集抑制作用仍颇敏感。到第 3 代,病毒即不受原倍马血清所中和,中和后所收获的病毒对马血清的血球凝集抑制作用也不敏感。取第 3 代中以 1:40 稀释的马血清中和后收获的、对马血清的血凝抑制仍敏感的病毒,再以马血清混合传代,病毒不为马血清所中和,1:40 的马血清中和后收获的病毒仍为马血清的血凝抑制素所抑制,但被较浓的(原倍及 1:5 稀释的)马血清中和后收获的病毒的血凝则不被马血清所抑制。(图 1a)

同样,桂防 62-11 在马血清的作用下也由对马血清的高度敏感逐步地变为对马血清的中和作用有耐受性,最后才变为对马血清的血球凝集抑制作用不敏感。所不同者是桂防 62-11 要在马血清的作用下通过较多代数才由敏感相变为不敏感相。(图 1b)

(2) 变异后病毒的相别的稳定性——上述敏感相病毒株通过马血清作用后获得的不敏感相病毒,在无马血清存在的情况下按照标准传代法连续通过鸡胚尿囊 4 代,每代收获尿囊液病毒滴定血凝效价及测定其相别。实验的结果表明,变异后的病毒,其相别甚为稳定,仍属不敏感相。

(3) 马血清作用后获得的病毒的其它性状——通过马血清中和后获得的变异株,不但对马血清的中和和血凝抑制作用不敏感,对正常豚鼠血清的非特异性血凝抑制素也不敏感,而其母株(京防 61-6)对豚鼠血清是高度敏感的。敏感相的京防 61-6 及桂防 62-11 株,本不凝集牛血球,变异株却似一般的不敏感相毒株那样能凝集牛血球,但对特异性抗体的亲和性则仍很高。

(4) 变异过程中的中间状态的毒株的稳定性——如前所述,敏感相毒株在马血清的作用下逐步地变为不敏感相,在此变异过程中,有些代数的病毒,由于对抑制素的敏感性

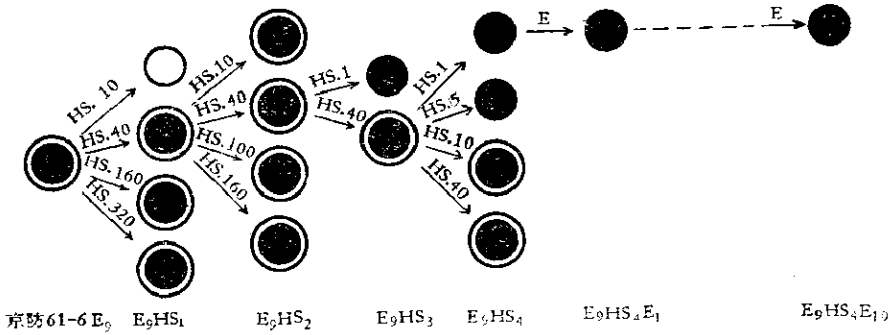


图 1a 京防 61-6 株(敏感相病毒)在正常馬血清作用下,发生相的变异示意图

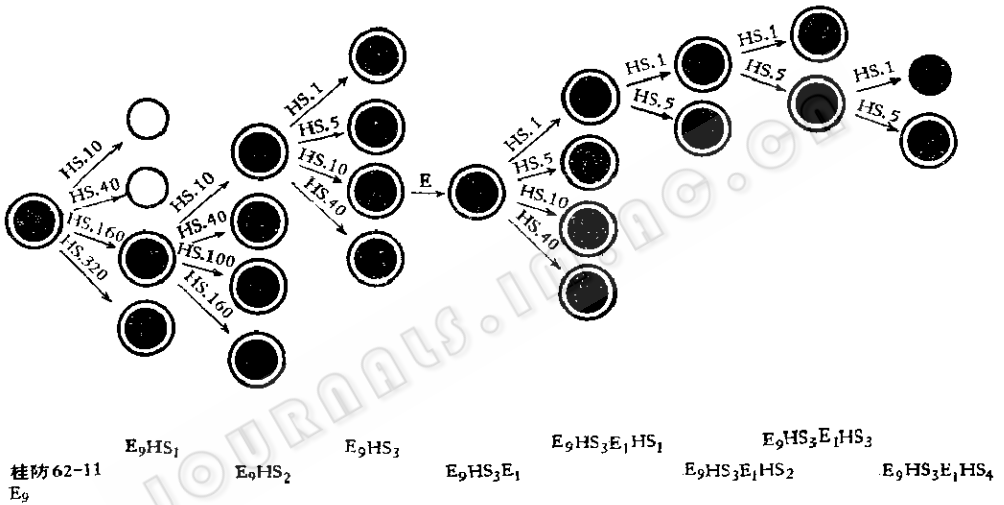


图 1b 桂防 62-11 株(敏感相病毒)在正常馬血清作用下,发生相的变异示意图

图例说明:

- 病毒血凝阳性,对抑制素敏感; $\xrightarrow{\text{HS. 1.}}$ 适当稀释的病毒与正常馬血清原液混合后通过鸡胚尿囊;
- 病毒血凝阳性,对抑制素不敏感; $\xrightarrow{\text{HS. 5}}$ 适当稀释的病毒与 1:5 稀释的正常馬血清混合后,通过鸡胚尿囊,余类推;
- 病毒已被正常馬血清中和,血凝阴性。 $\xrightarrow{\text{E}}$ 通过鸡胚尿囊。

逐渐下降而形成中间类型或过渡性毒株。我们将其中一株京防 61-6 $E_9 HS_3 E_1$ (馬血清对它的血凝抑制滴度为 1:20) 分别以标准传代及終末稀释法传代,前者获得的病毒对馬血清的血凝抑制作用的敏感性略有增高(从 1:20 增至 1:60),而用終末稀释传代所获得的病毒仍維持其原来对抑制素的敏感程度(1:15)。

4. 试图使不敏感相病毒转变为敏感相病毒

根据以往的經驗^[10,11],我們把长生 57-2 E_9 , 长生 57-14 E_{23} , 京科 57-15 E_9 , 长生 58-9 E_9 , 兰生 60-2 E_3 等不敏感相毒株,以及从京科 58-24 分离出的純不敏感相病毒,鼻腔滴入小白鼠传代(2—10 代不等),每代收获鼠肺,制成鼠肺悬液病毒,測定其相别,未发现相的变异发生。以馬血清作中和試驗,亦未发现通过鼠肺后的病毒中含有敏感

相病毒。

以京科 57-3 E_6 , 京科 57-9 E_9 , 京科 57-18 E_{10} , 京科 57-26 E_{11} , 长生 57-14 E_{20} , 京科 59-7 E_9 , 兰生 60-2 E_{12} 等不敏感相毒株鼻腔滴入华北地鼠, 传 1—2 代, 未发现有的相的变异。

三、討 論

亚洲甲型流感病毒的相的表现, 曾由于研究工作者的着眼点不同而给以各种不同的命名, 如根据毒株对血清抗体的敏感程度的不一致, Levy 及 Wagner^[3], Berlin 等^[17] 称之为 Q 相及 R 相, Tokuda 等^[18] 称为 P 相及 Q 相, Жданov^[7], Fukumi^[5], Takátsy 等^[19] 称为亲和相及非亲和相; 有些则从毒株对非特异性抑制素是否敏感出发而分为敏感的及不敏感的病毒^[20,21]。梁荣根等^[1] 发现亚洲甲型毒株对抑制素的敏感与否及对特异性抗体的亲和与否有平行的关系, 并以 I、II 相为其标志。近年来我国的研究工作者就沿用 I、II 相的名称, 其含意是: I 相毒株是对抑制素敏感和对抗体有高度的亲和性的, 反之, II 相病毒对抑制素不敏感, 对抗体亲和性也差。根据近年的文献报导^[5,15,16,22] 以及在本文内所提供的材料, 可以很明确地肯定亚洲甲型病毒对抑制素的敏感性及对抗体的亲和性之间虽然总的看来有一定的联系, 但并无绝对的平行关系, 某些不敏感相病毒且可能对抗体有相当高的亲和性。看来沿用 I、II 相的名称已不足以包括亚洲甲型病毒的相的内容。为此, 我们建议以敏感相(或不敏感相)和亲和相(或非亲和相)来表示某一毒株对抑制素的敏感与否及对抗体的亲和程度。

Choppin 和 Tamm^[14,21], Cohen 和 Biddle^[23] 曾报告亚洲甲型病毒在传代过程中发生对抑制素敏感性的改变是由于在病毒材料中对抑制素敏感的病毒颗粒和不敏感的病毒颗粒的含量不同所致。Cohen 和 Smith^[24] 曾报告亚甲型流感毒株中有不同血清学亲和性的病毒颗粒混合存在。我们分别运用终末稀释传代及用马血清中和的方法, 从一些亚洲甲型病毒株中分离出纯敏感相及纯不敏感相病毒颗粒, 表明在某些毒株中的确含有两种不同敏感性的病毒颗粒。这些毒株对抑制素的敏感性如何, 决定于两种病毒颗粒的比例, 象京科 58-24 株因为含敏感相的病毒颗粒较多, 所以整个毒株就表现为敏感相。由此可以推想, 某些含有两种不同病毒颗粒的毒株, 在传代或适应过程中发生相别的改变可能是一种淘汰与选择的结果, 即原来占优势的病毒颗粒被淘汰而转居劣势或甚至消失, 原来居于劣势的在新的条件下发展起来居为优势。

但我们还发现了一些纯属敏感相及不敏感相的病毒, 按淘汰、选择的结果而表现出相的改变似难于解释。在这种情况下这些毒株能否发生相变呢? 本文中报告了两株纯敏感相病毒在马血清(抑制素)作用下在鸡胚中经过数代后均出现了不敏感相的变异株。我们认为这些不敏感相病毒不是原毒株内含有的, 而是敏感相毒株发生变异的结果, 其理由如下: (1) 母株(京防 61-6 及桂防 62-11) 完全为马血清所中和, 中和后收获的鸡胚尿囊液盲目传一代也未发现有病毒存在, 可以认为母株为纯敏感相病毒; (2) 在传代过程中, 病毒先逐步耐受马血清的中和作用, 以后才完全对马血清的血凝抑制作用不敏感, 其间可见明显的逐步变异的迹象; (3) 病毒的中間状态的存在可为变异过程的另一辅证; (4) 变异株不但对马血清不敏感, 对豚鼠血清的血凝抑制作用也不敏感, 而且在血凝谱方面也符合不敏

感相病毒的特性：从不凝集牛血球变为凝集牛血球。因此我们认为病毒在实验室条件下真正地发生了变异。

至于正常马血清在变异的发生上到底起什么作用，根据现有资料还难于作出分析。很可能变异是自发性突变，而马血清仅仅起到选择作用，但也可能马血清对病毒的遗传结构有直接的或间接的改变作用，也就是说真正的诱变。对这个問題，尚待进一步地研究加以闡明。

在过去的实验室工作中曾发现以不敏感相病毒通过小白鼠、华北地鼠和棉鼠后有时可以获得敏感相病毒^[10,11]，但本文通过同样的方法未能使不敏感相转变为敏感相，这种实验结果分歧的原因，可能是由于过去实验所用的病毒材料中含有敏感相病毒颗粒，在上述实验动物的呼吸道中繁殖得较好，故转居优势而表现为相的改变，而本文报告的工作所使用的病毒可能属于纯不敏感相，因而未能在通过上述动物呼吸道后发生相的改变。至于用其它实验室方法从纯不敏感相病毒转变为敏感相的可能性，尚有待进一步探讨。

四、結 語

1. 亚洲甲型流感病毒由于对抑制素的敏感与否及对抗体的亲和程度不同而呈现相的差别，对抑制素的敏感性及对抗体的亲和性之间虽然总的看来有一定的联系，但并无绝对的平行关系，为了确切地表达某一毒株的相别，建议以敏感相(或不敏感相)、亲和相(或非亲和相)来表示。

2. 亚洲甲型流感病毒株有的含有敏感相及不敏感相病毒颗粒，有的则仅含敏感相病毒或不敏感相病毒。对含有两种不同相别的病毒颗粒的毒株来说，其相的改变取决于两种病毒颗粒的比例如何，因此，其性质的改变可能表现为淘汰、选择的过程。至于纯敏感相病毒株，在适量的马血清抑制素作用下鸡胚传代，则可以见到病毒先耐受抑制素的中和作用，然后对其血凝抑制作用也不敏感，即在相别上真正发生了变异。

参 考 文 献

- [1] 梁荣根, 馮慧英, 张育琴, 湯飞凡: 科学通报, (13):405, 1957.
- [2] Tokuda, M.: *J. Immunol.*, **81**:107, 1958.
- [3] Levy, A. H., Wagner, R. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **98**:357, 1958.
- [4] Zhdanov, V. M., Zakstelskaya, L. Y., Yefinova, V. E., Khait, S. I.: *J. A. M. A.*, **167**:1469, 1958.
- [5] Fukumi, H.: *Bull. W. H. O.*, **20**:421, 1959.
- [6] Harboe, A., Recnaas, R.: *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **46**:266, 1959.
- [7] Zhdanov, V. M.: *Bull. W. H. O.*, **20**:261, 1959.
- [8] 薛凤举, 王植全, 李翰唐, 朱既明: 人民保健, **1**(10):947, 1959.
- [9] 薛凤举, 王植全, 焦永真, 楊珠, 汪小初, 李翰唐, 李敬之: 中华内科杂志, **10**(2):74, 1962.
- [10] 任貴方, 王植全, 朱既明: 微生物学报, **9**(3): 242, 1963.
- [11] 刘錦棠, 童葵塘, 朱既明: 微生物学报, **7**: 284, 1959.
- [12] Reed, L. J., Muench, H.: *Am. J. Hyg.*, **27**:493, 1938.
- [13] 全国流行性感胃中心研究室: 流行性感胃手册, 第 89—93 頁, 第 97—100 頁, 1958.
- [14] Choppin, P. W., Tamm, I.: *J. Exp. Med.*, **112**:895, 1960.
- [15] Gorbunova, A. S.: *Acta Virol.*, **4**:255, 1960.
- [16] Fridman, E. A., Boldasov, V. K.: *Acta Virol.*, **6**:132, 1962.
- [17] Berlin, B. S., Minuse, E., Hennesy, A. V., Davenport, F. M.: *Fed. Proc.*, **17**:505, 1958.
- [18] Tokuda, M., Ikawa, S., Suzuki, S.: *Ann. Rept. Inst. Virus Res., Kyoto Univ.*, **3**:168, 1960.

- [19] Takátsy, Gy., Barb, K., Farkas, E.: *Acta Virol.*, 3 (Suppl.): 79, 1959.
- [20] James, S. M., Fiset, P.: *Nature*, 184 (Suppl.):1656, 1959.
- [21] Choppin, P. W., Tamm, I.: *Virol.*, 8:539, 1959.
- [22] Isachenko, V. A.: *Acta Virol.*, 4:250, 1960.
- [23] Cohen, A., Biddle, F.: *Virol.*, 11:458, 1960.
- [24] Cohen, A., Smith, W.: *Brit. J. Exp. Path.*, 38:385, 1957.

STUDIES ON THE PHASE OF ASIAN INFLUENZA VIRUS

I. PHASE VARIATION

WANG CHIH-LUN HsÜEH FENG-CHÜ

(*Institute of Virology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking*)

Different strains of Asian influenza virus show phase differences, both in their sensitivity to nonspecific inhibitor and in their avidity to specific antibody. Although these two characters tend to be associated in many cases, no constant relationship between inhibitor sensitivity and antibody avidity has been found. Therefore, the authors propose to designate strains as sensitive or nonsensitive and avid or non-avid according to individual strain characteristics, instead of the terms phase I and II, or phase P and Q, as originally proposed by previous workers.

Among Asian influenza virus strains, some were found to comprise two kinds of virus particles, inhibitor sensitive and inhibitor nonsensitive, and some comprise only a single kind of virus particles. Of the former strains, the phase appearance depends on the proportion of the two kinds of particles and the apparent phase variation of the virus population merely represents a process of selection. However, true phase variation has also been observed, when pure inhibitor-sensitive strains were repeatedly passed in chick embryos in the presence of normal horse serum inhibitor. Such variation might be the result of mutation.