

# I、II、III型副流感病毒在多种組織培养上的繁殖特性

侯云德 阮薇琴

(中国医学科学院病毒学研究所, 北京)

就目前所知, 副流感病毒共有四型: 第 I 型: HA-2 病毒(血球吸附病毒第 II 型)<sup>[1]</sup>; 第 II 型: CA 病毒(Croup-associated)<sup>[2,3]</sup>; 第 III 型: HA-1 病毒(血球吸附病毒第 I 型)<sup>[1]</sup>; 第 IV 型: M-25 病毒<sup>[4]</sup>。仙台病毒过去列为第 I 型<sup>[5]</sup>, 后来經 Букринская 以及作者之一的进一步研究认为該病毒不应与 HA-2 病毒同列为第 I 型<sup>[6]</sup>。关于該病毒的分离和鉴定过去一般采用单层猴腎細胞, 但是在我国大部分地区猴腎細胞的来源是比较困难的。并且猴腎細胞常伴有隐性病毒, 其中如 SV-5<sup>[7]</sup>, 即 SA 病毒<sup>[8]</sup>就具有人类副流感病毒的特性, 与 CA 病毒还具有部分抗原連系<sup>[9]</sup>。因此有必要再寻求其他敏感細胞以代替猴腎細胞来进行副流感病毒的研究工作。关于該病毒在組織培养上的性能国外文献虽有过零星的报导<sup>[10-13]</sup>, 但是都缺乏系统的比較。本文就常見的三型副流感病毒在十种細胞培养上的繁殖特性进行了研究。

## 材 料 和 方 法

**病毒株** 第 I 型: Ш-В (Шегланов) 株和 Бир (Бирюков) 株, 1960 年苏联分离, 前者为莫斯科变异株, 后者为美国变异株<sup>[6]</sup>; 第 II 型: CA 株, 美国分离; 第 III 型: HA-1 株, 美国分离; EA106 株, 1958 年法国分离; SF-4 株, 1959 年美国分离<sup>[14]</sup>。上述毒株均經猴腎細胞传了 3—6 代, 1962 年底来自苏联病毒学研究所, 在本实验室人胎腎細胞培养上传了 3 代, 在 -20℃ 冰箱保存, 1 ½ 月內使用。在人胎腎細胞培养上的感染滴度: 第 I 型在 3.5—5.0 之間; 第 II、III 型在 6.25—8.5 之間 (log ID<sub>50</sub>/毫升)。

**单层細胞培养** 5 种原代細胞包括猴腎(恆河猴), 人胎腎(3—9月死胎), 乳豚鼠腎(初生 1—3 天), 乳牛腎(初生一周)和鸡胚腎(18—20 天); 5 种传代細胞包括 KB, FL, Detroit-6, SHK (本所获得的人胎腎传代細胞) 和 HL (本所获得的人胎肺传代細胞)。原代細胞的制备: 猴腎用 0.25%, 其他用 0.125% 胰酶消化, 每管接种細胞 25—30 万, 病毒接种前細胞的培养液为含有 0.5% 水解乳白蛋白和 10% 小牛血清的 Hanks 液, 接种后用 199 溶液維持, pH 在 7.2—7.5 之間。传代細胞用 0.03% Versene 在室温分散其細胞, 每管接种 7—8 万細胞, 病毒接种前細胞培养液为含有 15% 小牛血清的 199 液, 接种后的維持液为含有 2% 小牛血清的 199 液。

**病毒接种** 单层細胞以 Hanks 液洗滌一遍, 每管接种感染材料 0.1 毫升, 在室温接触 30 分鐘后加入維持液, 在 35—36℃ 培养。連續传代时則采用 72 小时不稀释的培养液, 并于接种前冰冻融化一次。在进行病毒繁殖动态的試驗时, 接种前分別消化 3—4 管单层細胞, 得出每管細胞的平均数, 計算出每个細胞承受的病毒量。

**血球吸附試驗** 于受染单层細胞管中加入 0.2 毫升 0.5% 豚鼠血球悬液, 室温放置 3—5 分钟后以低倍显微镜观察之。結果以“—”代表阴性, 以“+, ++, +++, ++++”表示阳性, 吸附面积相应各为 <25%, 25—50%, 50—75%, 75—100%。

**血凝試驗** 0.5% 各种动物的血球悬液, 总量 0.4 毫升。

**病毒感染滴度 ( $ID_{50}$ )** 每一 10 倍稀释度接种 3 管, 在 35—36°C 培养 4 天后讀取結果, 以阳性血球吸附現象标志感染的存在, 結果以 Reed 和 Muench 二氏法計算之。

**玻片单层細胞标本的制备** 用 1×6 厘米玻片或 1×2 厘米盖玻片放于方瓶或試管中, 待形成单层后, 接种病毒 0.2 毫升(方瓶)或 0.1 毫升(試管)。每株病毒接种 3—5 个标本, 感染量为  $10^4$ — $10^5$   $ID_{50}$ , 36°C 培养 72 小时后取出标本, 用甲醇固定 3—5 分钟, 以 Giemsa 液染色。

## 实 驗 結 果

### (一) I、II、III 型副流感病毒在多种組織培养上未經传代和传代后感染滴度的比較

以三型副流感病毒(人胎腎細胞培养第 3 代)分別在 5 种原代細胞和 5 种传代細胞培养上进行感染滴度的比較。在准备实验中观察到, 在病毒接种后第 4 至第 7 天以血球吸附現象为指标的感染滴度基本上不再有增加, 所以我們一律在感染后第 4 天計算其感染滴度, 結果列于表 1。人胎腎、猴腎、乳豚鼠腎細胞对第 I 型病毒繁殖的敏感性較高, 病毒滴度在 4.25—5.5 之間 ( $\log ID_{50}$ /毫升); KB, HL 和 Detroit-6 細胞次之; 乳牛腎、鸡胚腎細胞和 FL, SHK 細胞不敏感。第 II 型病毒除在鸡胚腎細胞上不繁殖外, 在大多数細胞培养上的感染滴度較高, 其中以人胎腎和猴腎細胞为最敏感 ( $\log ID_{50}$ /毫升分別为 8.0 和 6.75)。第 III 型病毒在人胎腎、猴腎和乳豚鼠腎細胞培养上的感染滴度也較其他种类的細胞培养为高, 但其中从牛分离的 SF-4 株在猴腎細胞培养上的感染滴度远較在牛腎細胞培养上为低。我們进一步将三型副流感病毒在部分原代細胞和传代細胞上繼續传代, 然后再分別測定其在相应的細胞培养中經過传代后的感染滴度。表 2 結果表明: I、II、III 型病毒在人胎腎和乳豚鼠腎細胞培养上經過传代后的感染滴度基本上与传代前相差不大, 但在猴腎細胞培养上的感染滴度就有所提高。除第 II 型病毒在 KB、FL、SHK 等传代細胞培养經传代后滴度有显著提高外, 第 I、III 型病毒的感染滴度在传代过程中显著下降, 其中第 I 型病毒一般在第二代血球吸附現象就完全消失, 再以此受染材料接种到敏

表 1 I、II、III 型副流感病毒在多种細胞培养上的感染滴度

| 病毒型別 | 毒 株   | 原 代 細 胞 |            |      |            |     | 传 代 細 胞 |     |     |      |           |
|------|-------|---------|------------|------|------------|-----|---------|-----|-----|------|-----------|
|      |       | 人胎腎     | 猴 腎        | 乳豚鼠腎 | 乳牛腎        | 鸡胚腎 | KB      | FL  | SHK | HL   | Detroit-6 |
| I    | III-B | 4.5*    | 4.25       | 5.5  | +          | 0   | 3.5     | 0   | 0   | 3.5  | 2.5       |
|      | Бнр   | 4.25    | 4.75       | 4.5  | +          | 0   | 3.66    | 0   | 0   | 2.25 | 1.5       |
| II   | CA    | 8.0     | 6.75       | 5.5  | 4.75       | 0   | 4.0     | 4.5 | 5.5 | 4.5  | 3.5       |
| III  | HA-1  | 7.16    | 6.25       | 7.5  | $\leq 3.5$ | +   | 4.5     | 1.5 | 1.5 | 3.5  | 3.5       |
|      | SF-4  | 8.0     | $\leq 3.5$ | 6.5  | 6.5        | 0   | 5.0     | 5.5 | 0   | 0    | 0         |
|      | EA106 | —       | —          | 4.5  | —          | —   | —       | —   | —   | —    | —         |

\*  $\log ID_{50}$ /毫升为两次实验結果的平均数, “+”表示以不稀释的病毒悬液接种后偶尔出現有“+”的血球吸附現象, “0”表示阴性, “—”未做。

感細胞时(人胎腎細胞)也沒有出現血球吸附現象。归納表 1 和表 2 的結果說明人胎腎、猴腎、乳豚鼠腎細胞对副流感病毒的敏感性基本上相似。传代細胞中除对第Ⅱ型病毒敏感外,对第Ⅰ、Ⅲ型病毒的敏感性較低或不敏感。就病毒对敏感細胞的范围而言,第Ⅱ型病毒最广,第Ⅲ型次之,第Ⅰ型最窄。

表 2 Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 型副流感病毒在多种細胞培养上傳代后的感染滴度

| 病毒型別 | 毒 株        | 原 代 細 胞 |         |         | 传 代 細 胞 |         |        |
|------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|
|      |            | 人 胎 腎   | 猴 腎     | 乳豚鼠腎    | KB      | FL      | SHK    |
| Ⅰ    | Ⅲ-B<br>Бир | 4.5(9)* | —       | 4.75(6) | 0(4)    | 0(3)    | 0(4)   |
|      |            | 4.0(9)  | 6.25(6) | 4.5(6)  | 0(4)    | 0(3)    | 0(4)   |
| Ⅱ    | CA         | 7.5(10) | 7.5(6)  | 7.0(9)  | 7.5(7)  | ≥7.5(8) | 6.5(6) |
| Ⅲ    | HA-1       | 7.7(10) | 7.25(5) | 5.75(4) | —       | —       | —      |
|      | SF-4       | 6.5(10) | —       | 6.5(9)  | 2.5(6)  | —       | 0(4)   |
|      | EA106      | —       | —       | 6.75(8) | —       | —       | —      |

\* log ID<sub>50</sub>/毫升,括号内数字表示传代数,“—”表示实验未做。

(二) Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 型副流感病毒在人胎腎和 KB 細胞培养上所引起的細胞病变

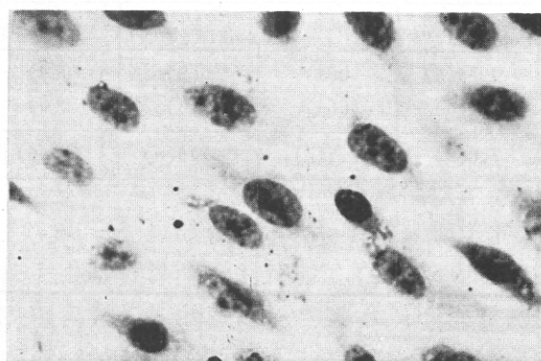
上述实验表明:副流感病毒在人胎腎和猴腎細胞培养上的感染滴度大致上是相同的。但是在受染单层細胞未經染色观察时,病毒在猴腎細胞所引起的病变远比在人胎腎細胞为明显。第Ⅲ型病毒在猴腎細胞上引起病变的特点是形成多核巨細胞;第Ⅱ型也有細胞融合現象,細胞层往往解离呈海綿状;第Ⅰ型仅在細胞层的边緣引起輕微的病变,如細胞变圓、縮小、胞浆内顆粒增加,但是不論以未經传代的或是經传代后的病毒感染人胎腎細胞后 7—10 天内,如果細胞标本未經染色,都看不出有明显的細胞病变。为了确定副流感病毒在人胎腎細胞培养上是否也引起特征性細胞病变,仅在程度上較輕微,我們制作了玻片单层細胞染色标本,系統地进行了观察,同时还采用了一株传代細胞(KB)以資比較。表 3 为 5 次实验的結果。第Ⅰ型病毒在人胎腎細胞和 KB 細胞培养上不引起明显的細胞

表 3 Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 型副流感病毒在人胎腎和 KB 細胞引起細胞病变的比較

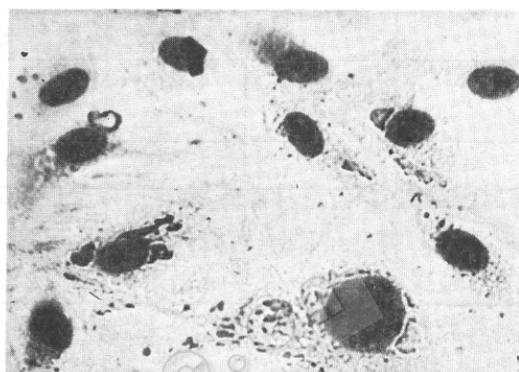
| 病毒型別 | 毒 株  | 人 胎 腎 細 胞 |         |                |             | KB 細 胞 |         |                |             |
|------|------|-----------|---------|----------------|-------------|--------|---------|----------------|-------------|
|      |      | 传代数       | 細 胞 病 变 |                | 血球吸附<br>現 象 | 传代数    | 細 胞 病 变 |                | 血球吸附<br>現 象 |
|      |      |           | 融合細胞*   | 胞 浆 内<br>包 涵 体 |             |        | 融合細胞    | 胞 浆 内<br>包 涵 体 |             |
| Ⅰ    | Бир  | 10        | —       | —              | ++++        | 1      | —       | —              | ++++        |
|      | Бир  | 12        | —       | —              | ++++        |        |         |                |             |
|      | Ⅲ-B  | 1         | —       | —              | ++++        |        |         |                |             |
| Ⅱ    | CA   | 5         | +       | ++++           | ++++        | 1      | ++++    | —              | ++++        |
|      | CA   | 11        | +       | ++++           | ++++        | 6      | +++     | ++++           | ++++        |
| Ⅲ    | HA-1 | 3         | ++++    | ++             | ++++        | 1      | ++      | —              | ++++        |
|      | HA-1 | 11        | ++      | ++             | ++++        | 5      | —       | —              | ++++        |
|      | SF-4 | 3         | +++     | +++            | ++++        |        | —       | —              | ++++        |

\* “—”表示阴性, +, ++, +++, ++++ 表示不同程度的阳性。

病变。第 II 型病毒引起多核巨细胞,但是核一般不超过 10 个,数量也较少,多核巨细胞内的细胞核与正常的没有发现有明显的差别。除形成多核巨细胞外在胞浆内出现有明显的嗜酸性包涵体,呈淡红色均质,形状极不规则,边缘也不整齐,有的围绕核的周围,有的在纺锤形细胞的二端,在包涵体的边缘通常有一明显的空白带围绕(图 1a, b)。在多核巨细胞的细胞浆内也有包涵体,第 II 型病毒在 KB 细胞上引起的多核巨细胞比较明显,细胞核一般在 10—40 个左右,但是病毒在 KB 细胞上未经传代前不引起胞浆内包涵体。第 III 型



a



b

图 1(a) 人胎肾细胞,正常对照, Giemsa 染色, 400X。

图 1(b) 人胎肾细胞,接种第 II 型副流感病毒 72 小时后引起的胞浆内嗜酸性包涵体, Giemsa 染色, 400X。

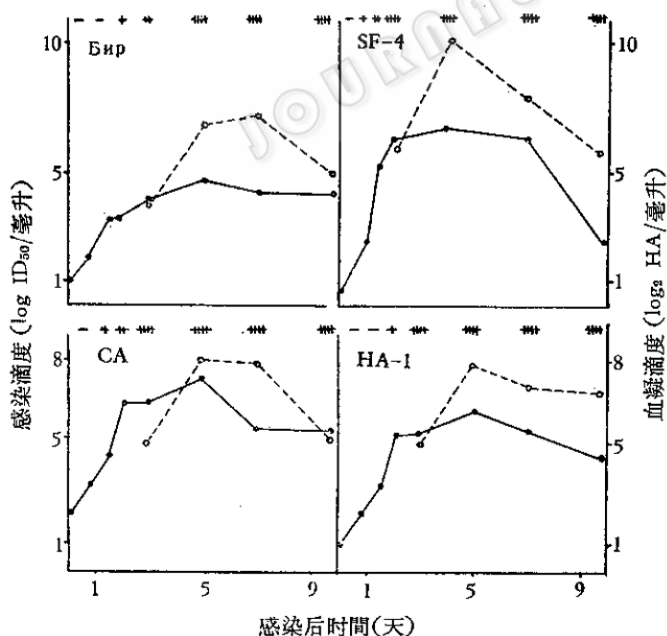


图 2 I (Бир)、II (CA)、III (HA-1, SF-4) 型副流感病毒在人胎肾细胞培养上的繁殖动态。

●—● 感染滴度;  
○—○ 血凝滴度;  
—, 血球吸附现象阴性;  
+, ++, +++, 血球吸附现象不同程度阳性。

病毒在人胎肾和 KB 细胞都引起较为明显的多核巨细胞,但是包涵体仅在受染人胎肾细胞的胞浆内观察到。包涵体的形态和 CA 病毒引起的相似,但在数量上较少。由此可见,II、III 型病毒在人胎肾细胞上也和在猴肾细胞上一样引起融合细胞,仅在程度上比后者较为轻微而已。至于胞浆内包涵体的特征则和 La Placa 等氏<sup>[15]</sup>, Lépine 等氏<sup>[16]</sup> 和 Brandt 氏<sup>[17]</sup> 在猴肾细胞和 HEP-2 细胞上观察到的相类似。

### (三) I、II、III 型副流感病毒在人胎肾细胞培养上的繁殖动态

为了解 I、II、III 型病毒在敏感的人胎肾细胞培养上的繁殖动态,以三型病毒分别感染单层细胞,感染量 Бир 株为 0.03 ID<sub>50</sub>/细胞; CA 株为 0.06 ID<sub>50</sub>/细胞; SF-4 株为 0.1 ID<sub>50</sub>/细胞; HA-1 株为 0.03 ID<sub>50</sub>/细胞。

胞。于感染后不同的時間內各取 3 管, 分別測定其感染滴度, 血凝滴度和血球吸附現象。从图 2 可見 I、II、III 型副流感病毒在人胎腎細胞培养上的繁殖动态有共同的特点: 感染滴度在受染后 4—5 天达最高, 以后便逐漸下降。血球吸附現象在受染后 24—48 小时內出現, 比血凝現象出現的時間为早, 并且大致上与病毒感染滴度开始急趋升高的時間相吻合。最高血凝滴度在感染滴度达到最高峯后才出現。

#### (四) I、II、III 型副流感病毒在人胎腎、猴腎和乳豚鼠腎細胞培养上所形成血凝素性能的比較

为了闡明 I、II、III 型病毒在人胎腎、乳豚鼠腎細胞所形成的血凝素是否与在猴腎細胞所形成的具有相同的性質, 我們以在三种細胞培养上传了 3—6 代的三型病毒的同一批材料, 用澳洲黑鸡、豚鼠、綿羊<sup>[18]</sup>和人胎臍帶血球, 在 4°, 18° 和 37°C 不同的温度下同—時間进行血凝性質的比較, 結果 (表 4) 說明: 三型病毒在上述三种細胞培养上形成的血凝

表 4 I、II、III 型副流感病毒在人胎腎、猴腎和乳豚鼠腎細胞培养上形成血凝素性能的比較

| 病<br>毒            | 反<br>應<br>溫<br>度 (°C) | 血球种类 |    |      | 病毒来源    |    |      |       |     |      |         |    |      |
|-------------------|-----------------------|------|----|------|---------|----|------|-------|-----|------|---------|----|------|
|                   |                       | 血 球  |    |      | 豚 鼠 血 球 |    |      | 人 血 球 |     |      | 綿 羊 血 球 |    |      |
|                   |                       | 人胎腎  | 猴腎 | 乳豚鼠腎 | 人胎腎     | 猴腎 | 乳豚鼠腎 | 人胎腎   | 猴腎  | 乳豚鼠腎 | 人胎腎     | 猴腎 | 乳豚鼠腎 |
| 第 I 型<br>(Bnp)    | 4                     | 48*  | 16 | 12   | 12      | <2 | <2   | 12    | <2  | <2   | 8       | 2  | <2   |
|                   | 18                    | 24   | 6  | 2    | 10      | <2 | <2   | 20    | <2  | <2   | <2      | <2 | <2   |
|                   | 37                    | <2   | <2 | <2   | 64      | 6  | 6    | 28    | 3.5 | 2    | <2      | <2 | <2   |
| 第 II 型<br>(CA)    | 4                     | 48   | 24 | 10   | 8       | 4  | 3    | <2    | <4  | <2   | 8       | 5  | 6    |
|                   | 18                    | 48   | 16 | 6    | 16      | 4  | 3    | 4     | <4  | <2   | 6       | <4 | 2    |
|                   | 37                    | 12   | 12 | 6    | 10      | 14 | 5    | 3.5   | 4   | 2    | 5       | <4 | <2   |
| 第 III 型<br>(HA-1) | 4                     | 192  | 64 | 8    | 24      | 12 | <2   | 12    | 6   | <2   | 14      | 6  | <2   |
|                   | 18                    | 128  | 64 | 6    | 48      | 12 | 3    | 12    | 8   | <2   | 24      | 7  | <2   |
|                   | 37                    | <2   | <2 | <2   | 48      | 28 | 3.5  | 16    | 32  | 2    | 32      | 32 | 2    |

\* 血凝滴度倒数。

表 5 I、II、III 型副流感病毒之人胎腎和猴腎細胞培养上形成的血凝素  
对人血清中所含非特异性抑制素的敏感性的比較

| 病毒<br>来源  | 病毒株  | 实 验 数            |                   |    |     |    |     |    |     |    |     |    |     |    |     |
|-----------|------|------------------|-------------------|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|
|           |      | 1                |                   | 2  |     | 3  |     | 4  |     | 5  |     | 6  |     | 7  |     |
|           |      | 原始 <sup>1)</sup> | RDE <sup>2)</sup> | 原始 | RDE | 原始 | RDE | 原始 | RDE | 原始 | RDE | 原始 | RDE | 原始 | RDE |
| 人胎<br>腎細胞 | Бир  | 40 <sup>3)</sup> | 16                | 40 | <8  | <8 | <8  | 16 | <8  | 12 | <8  | 10 | <8  | 28 | <8  |
|           | CA   | 64               | <8                | 48 | <8  | 56 | <8  | 56 | <8  | 16 | <8  | 24 | <8  | 96 | 48  |
|           | HA-1 | 40               | <8                | 32 | <8  | <8 | <8  | 12 | <8  | 12 | <8  | 10 | <8  | 32 | <8  |
| 猴腎<br>細胞  | Бир  | 40               | 14                | 48 | <8  | <8 | <8  | 24 | <8  | 16 | <8  | 16 | <8  | 28 | <8  |
|           | CA   | 56               | <8                | 28 | <8  | 32 | <8  | 48 | <8  | 12 | <8  | 14 | <8  | 96 | 32  |
|           | HA-1 | 40               | <8                | 28 | <8  | <8 | <8  | 12 | <8  | 12 | <8  | <8 | <8  | 28 | <8  |

注: 1) 原始血清未加任何处理。  
2) 用霍乱弧菌滤液处理过的血清。  
3) 血凝抑制滴度的倒数。

素在以下几方面的表现基本上是相同的: (1) 三型副流感病毒对上述四种血球敏感性的次序是: 澳洲黑鸡、豚鼠、绵羊、人血球, 但是对第 I 型病毒人血球较绵羊血球稍为敏感; (2) 三型副流感病毒在反应温度为  $4^{\circ}\text{C}$  时凝集鸡血球的滴度最高, 在  $37^{\circ}\text{C}$  时第 II 型病毒尚能引起血凝, 而第 I、III 型病毒则否; (3) I、II、III 型病毒对豚鼠和人血球, III 型病毒对绵羊血球的凝集滴度虽然较低, 但有如下趋势: 当反应温度为  $37^{\circ}\text{C}$  时其血凝滴度都较反应温度  $4^{\circ}\text{C}$  时为高。

此外, 从表 5 的 7 次实验中可见: I、II、III 型病毒在人胎肾和猴肾细胞培养上所形成的血凝素对人血清中含有的非特异性抑制素的敏感性也是相同的。有些血清虽经 RDE 处理, 仍对病毒有抑制效价, 是否系抗体尚待进一步研究。

## 討 論

人胎肾和乳豚鼠肾皮质上皮细胞对副流感病毒繁殖的敏感性基本上与猴肾细胞是相似的。因此, 这就为试用人胎肾和乳豚鼠肾细胞代替昂贵难得并且可能伴有隐性病毒的猴肾细胞来分离副流感病毒提供了可能性。根据我们的经验, 乳豚鼠肾细胞用 199 液维持时一般不超过 2 周, 但人胎肾细胞一般可维持 30—40 天左右, 从这点来说, 后者对分离病毒比前者更为有利。

第 II、III 型病毒在人胎肾细胞培养上和猴肾细胞培养上一样引起特征性的细胞浆内包涵体。这和 M-25 病毒<sup>[4]</sup>, NDV 病毒, 腮腺炎病毒在组织培养上引起的包涵体极为相似<sup>[19-20]</sup>。但是, 流感病毒在组织培养上不引起这一类的包涵体<sup>[27]</sup>, 因此, 用人胎肾细胞同样也可以代替猴肾细胞对副流感病毒进行在细胞病变方面的辅助性鉴别诊断。

虽然近年来作者<sup>[21]</sup>以及 Ishida 等氏<sup>[22]</sup>, Matsumoto 等氏<sup>[23]</sup>发现仙台病毒, Drake 等氏<sup>[24]</sup>发现 NDV 等粘液类病毒在不同的宿主体系有“宿主诱导变异”的现象。但是本实验结果表明, I、II、III 型副流感病毒在人胎肾、猴肾和乳豚鼠肾细胞所形成血凝素的性质基本上是相同的。因此可以用人胎肾细胞代替猴肾细胞进行各种血清学反应, 包括中和试验和血球吸附抑制试验以及制备血凝抑制试验抗原。

综上所述, 我们认为用人胎肾细胞代替猴肾细胞在实验室进行副流感病毒的研究是有一定根据的。

## 結 論

(一) I、II、III 型副流感病毒在 10 种细胞培养上进行了感染滴度的比较。人胎肾、猴肾和乳豚鼠肾细胞对病毒的敏感性最高, 并且基本上相似。这三型病毒在上述三种细胞培养上所形成的血凝素的性质, 就其对各种血球在不同温度下的凝集能力和对人血清中非特异性抑制素的敏感性而言是相同的。

(二) I、II、III 型副流感病毒在人胎肾细胞培养上的繁殖曲线基本上相似, 病毒滴度在感染后 4—5 天达最高。II、III 型病毒所引起细胞病变的特点是形成多核巨细胞和胞浆内包涵体, 第 II 型病毒引起后者较明显, 第 III 型病毒引起前者较明显。第 I 型病毒不引起明显的病变。

(三) 关于以人胎肾细胞代替猴肾细胞进行副流感病毒的实验研究的可能性进行了

討論。

## 参 考 文 献

- [1] Chanock, R. M., Parrott, R. H., Cook, K. M., Andrews, B. E., Reichelderfer, T., Kapikian, A. Z., Mastrotta, F. M., Huebner, R. J.: *New England J. Med.*, **258**:207, 1958.
- [2] Chanock, R. M.: *J. Exp. Med.*, **104**, 556, 1956.
- [3] Beale, A. J., Mcleod, D. L., Stackiw, W. and Rhores, A. J.: *Brit. Med. J.*, **1**:302, 1958.
- [4] Johnson, K. M., Chanock, R. M., Cook, M. K., Huebner, R. J.: *Amer. J. Hyg.*, **71**:81, 1960.
- [5] Anderwes, C. H., Bang, F. B., Chanock, R. M. and Zhdanow, V. M.: *Virology*, **8**:129, 1959.
- [6] Bukrinskaya, A. G., Ho Yun-de (侯云德), Gorbunova, A. S.: *Acta Virologica*, **6**:352, 1962.
- [7] Hull, R. N., Minner, J. R. and Smith, J. W.: *Amer. J. Hyg.*, **63**:204, 1956.
- [8] Shultz, E. W. and Habel, K.: *J. Immunol.*, **82**:274, 1959.
- [9] Chanock, R. M., Johnson, K. M., Cook, K. M., Wong, D. C. and Vargosko, A.: *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **83**:125, 1961.
- [10] Букринская А. Г.: *Воп. Вирусол.*, **6**: 744, 1960.
- [11] Застельская, Л. Я. и Фан И-лан.: *Воп. Вирусол.* **1**: 71, 1962.
- [12] Smorodintsev, A. A.: *Acta Virologica*, **6**:338, 1962.
- [13] Dossena, G. and Bellelli, E.: *Igiene Mod.*, **54**:494, 1961.
- [14] Reisinger, R., Heddleston, K. L. and Manthei, C.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, **135**:147, 1959.
- [15] La Placa, M. and Moscovici, C.: *Ann. Inst. Pastuer*, **100**:337, 1961.
- [16] Lepine, P., Chany, C., Droz, B., Robbe-Fossat F.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **81**:1, 62, 1959.
- [17] Brandt, C. D.: *Virology*, **14**:1, 1961.
- [18] Yamashiroya, H. M., Pumper, R. W. and Tess, B. R.: *Nature*, **192**:582, 1961.
- [19] Brandt, C. D.: *Virology*, **5**:177, 1958.
- [20] Maass, G. and Mannweiler, K.: *Arch. ges. Virusforsch.*, **10**:195, 1960.
- [21] 侯云德: Докторская диссертация, Москва, 1962.
- [22] Ishida, N. and Homma, M.: *Virology*, **14**:486, 1961.
- [23] Matsumoto, T. and Maeno, K.: *Virology*, **17**:563, 1962.
- [24] Drake, J. W. and Lay, P. A.: *Virology*, **17**:56, 1962.

## GROWTH CHARACTERISTICS OF PARAINFLUENZA VIRUSES TYPE I, II AND III IN VARIOUS TISSUE CULTURE SYSTEMS

HO YUN-DE AND YUAN WEI-CHIN

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

The growth characteristics of laboratory strains of parainfluenza viruses type I, II and III in cultures of kidney cells obtained from human embryo, rhesus monkey, suckling calf, suckling guinea pig and chick embryo, and of five human cell lines (FL, KB, Detroit-6, HL-human embryonic lung and SHK-human embryonic kidney) were investigated. In studies on the susceptibility of various tissue culture systems to parainfluenza viruses, whether unadapted or adapted to these representative cell cultures, it was found that human embryonic, monkey and suckling guinea pig kidney cultures were the most sensitive. Infectious titres ( $ID_{50}$ ) demonstrated by hemadsorption in these cultures varied from  $10^{-4.5}$  to  $10^{-8.5}$  per ml. As for the host cell range of these viruses, it appears that type II virus multiplied well in all cultures tested except for chick embryo kidney cells, while type I virus possessed the narrowest host range. Parainfluenza viruses produced more cytopathic effect in cultures of monkey kidney than in those of human embryonic kidney. Cytopathic changes in human embryonic kidney cells infected with type II and III parainfluenza viruses were characterized by formation of multinucleated syncytia with eosinophilic intracytoplasmic inclusion bodies. Parainfluenza type I virus (HA-2) did not produce any detectable cytopathic changes in human kidney cultures. Similar growth patterns of these three virus types were found in cultures of human embryonic kidney. Maximal virus titres were reached by the end of the 4th day after inoculation. Highest hemagglutination titres were observed after 4 days and coincided with the appearance of maximal virus titres. Hemadsorption became positive after 24—48 hrs. The behaviour of hemagglutinins obtained from cultures of human embryonic, monkey and suckling guinea pig kidney was identical according to their ability to hemagglutinate erythrocytes from various species at different temperatures and their sensitivity to nonspecific inhibitors contained in human sera. The possibility of utilizing human embryonic kidney in place of monkey kidney for routine use in the study of parainfluenza viruses is discussed.