

流行性出血热病原学的研究——Balb/c乳鼠感染 病毒后鼠脑、鼠肺超微结构的观察

隋文作 王世和 高俊峰* 脱朝伟 于淼

宋桂芹 金 俐 明彩荣 李永明

(辽宁中医学院, 沈阳)

何亦祥 李忠羲 刘江秋 温青莉

(沈阳军区军事医学研究所, 沈阳)

提 要

Balb/c乳鼠用标准病毒(EHF)H8278感染后取鼠脑、鼠肺进行电镜观察, 结果证明: 在鼠脑及鼠肺细胞内均发现有病毒, 病毒特点: 呈圆形或椭圆形, 单位膜结构清楚, 内含有一些比较疏松的丝状或颗粒状结构, 单位膜外有微突。病毒的大小在90~120nm之间。此外在细胞浆内并发现有包涵体。

流行性出血热为自然疫源性疾病, 其宿主动物与传染源为某些啮齿类动物。1978年Lee等^[1]用间接免疫荧光抗体方法, 从黑线姬鼠鼠肺细胞中分离出朝鲜出血热病毒, 我国宋干等人^[2,3]亦从黑线姬鼠, 褐家鼠中分离出流行性出血热病毒, 适应于A₅₄₉, Vero E-6^[4,5]细胞中, 并分离出病毒。关于病毒形态学方面有些学者^[6,7,8]亦有所报道。但应用Balb/c, 乳鼠感染流行性出血热病毒的超微结构观察, 尚未见有人报告, 今将结果报道如下:

材 料 与 方 法

1. 病毒株 由沈阳军区医学研究所用H8278标准株, 感染Balb/c乳鼠经8—12天发病, 有耸毛、痉挛、抽搐、后肢麻痹等症状, 此时取鼠脑、鼠肺组织进行研究。

2. H8278 标准株系经特异性免疫荧光 特异性免疫酶染色, 阻断实验等系列的鉴定^[5]。

3. 电镜超微结构的研究 流行性出血热病毒H8278感染Balb/c乳鼠, 待其发病后, 立即取乳鼠鼠脑、鼠肺经2.5%戊二醛及锇酸双重固定、乙醇, 丙醇逐级脱水, Epon812包埋、超薄切片, 用100CX II型电镜进行观察研究。

*中国医科大学,

结 果

(一) H8278标准株病毒感染Balb/c乳鼠发病后取其鼠脑、鼠肺组织经特异性免疫荧光检查,均呈颗粒状弥散或不规则的片状荧光,荧光分布达80%以上。经特异性免疫酶染色反应鼠脑,鼠肺内均有褐色颗粒大量出现。

(二) 电镜下超微结构:

1. 电镜下观察脑组织,一般见脑神经细胞部分变性或坏死,具有纤维增生,线粒体肿胀、或空泡化,具有大量微丝,内质网轻度扩张,细胞浆内核糖体增多。

2. 脑神经细胞内病毒颗粒的特点:

细胞浆内病毒颗粒比较分散,亦有聚集情况,而病毒颗粒多存于细胞核周围,内质网腔内或附近,偶尔于扩张的高尔基囊泡内亦发现有病毒颗粒。

病毒颗粒形态的特点:病毒呈圆形或椭圆形,单位膜结构清楚,内含有比较疏松的丝状或颗粒状结构单位,膜外有微突,病毒颗粒的大小在90—120nm之间,见图1,2。

包涵体:在细胞浆内有时发现有单层膜包绕着圆形,椭圆形颗粒状物质的包涵体。

3. 电镜下观察肺脏组织:

见肺细胞有变性、坏死改变,肺泡腔内有蛋白性物质,红细胞及变性脱落的细胞等。线粒体肿胀,嵴消失,空泡化,有的线粒体萎缩,内质网有的轻度肿胀等改变。

4. 肺脏组织内病毒的特点:

病毒呈圆形或椭圆形,有单位膜包绕呈丝状或颗粒状结构,外有微突,细胞浆内亦发现有包涵体样结构,见图3,4。

讨 论

关于流行性出血热病毒的超微结构形态特点,已有些报道^[6,7,8],我们所观察的病毒是用Balb/c乳鼠感染病毒后的超薄切片研究,目前国内外尚未见有类似报道。由此看来Balb/c乳鼠亦可作为分离研究流行性出血热的一种敏感动物,这株病毒的形态学特点类似Bunyaviridal病毒。我们用电镜所见病毒颗粒为流行性出血热病毒的根据是:

1. 本病毒与标准的流行性出血热病毒免疫荧光及酶反应呈特异性的阳性反应。

2. 经过病毒学鉴定,本病毒排除了呼肠孤病毒,疱疹病毒,登革热病毒,新疆出血热病毒等^[5]。

最近McCormick及White等人应用负染色电子显微镜技术认为朝鲜流行性出血热病毒属于布尼亚病毒科(Bunyaviridal)。据Lee等^[1,9]免疫荧光实验资料,朝鲜出血热病毒与多种砂粒病毒Arenaviridae,都无血清学上的联系,但与中国的流行性出血热病毒在血清学上有密切相关性。因此关于其归属问题我们认为可能属于Bunyaviridal成员之一,而此病毒的生物学特性需进一步深入研究。



- 图1. Balb/c 乳鼠脑神经细胞内病毒颗粒 (V), 线粒体(Mi) 80.000X
Map1. Viruses(V) in the brain cells of mice Balb/c and mitochondria(Mi), 80.000X
- 图2. Balb/c 乳鼠脑神经细胞内聚集的病毒颗粒(V), 粗面内质网(RER), 80.000X
Map2. Corps viruses(V) in the brain cells of mice Balb/c and rough surfaced endoplasmic reticulum(RER) 80.000X
- 图3. Balb/c 乳鼠肺细胞内的病毒颗粒 (V), 粗面内质网(RER), 溶酶体(Ly), 100.000X
Map3. Viruses(V) in the lung cells of mice Balb/c and rough surfaced endoplasmic reticulum(RER), lysosome(Ly) 100.000X
- 图4. Balb/c 乳鼠肺细胞浆内的包涵体 (IB), 细胞核(N) 40.000X
Map4. Inclusion bodies(IB) in the lung cells plasm of mice Balb/c and nucleus cells(N) 40.000X

参 考 文 献

- [1] Lee·H·W· 1978, *Tint Dis* 137(3): 298~308.
- [2] 宋干等, 1982; 中国医学科学院学报, 4(2): 73~77.
- [3] 严玉辰等, 1982. 中国医学科学院学报, 4(2): 67~71.
- [4] French, G·R·et al., 1981, *Science* 211.4486: 1046~1048.
- [5] 何永祥等, 1983微生物学杂志. 3(1,2)合刊: 1~6.
- [6] McCormick·J·B·et al 1982, *Lancet*·1, 8275: 765~768.
- [7] Whit, J·D·et al 1982, *Lancet*·1·8275: 768~769.
- [8] 洪涛等; 1983, 中华微生物和免疫学杂志3.(2): 69~72.
- [9] Lee·H·W·et al, 1980 *Lancet*, 1: 819

ETIOLOGIC STUDY OF EPIDEMIC HEMORRHAGIC FEVER, ELECTRONMICROSCOPY STUDY OF THE LUNGS AND BRAINS OF MILK MICE BALB/C INFECTED BY VIRUS

Sui Wen-zuo, Gao Jun-feng, He Yi-xing et al
(Liaoning Traditional Chinese Medicine College, Shenyang)

The brains and lungs of mice Balb/c infected by standard virus H8278 are examined by electronmicroscopy.

There are viruses in the cells of the lungs and brains. The viruses show round and ellipse in shape and the structure of cell membrane is clear, in which loose threadlike or granule structures are included. Foot process could be seen outside of the cell membrane. The sizes of viruses are between 90—120nm. Inclusion bodies are found in the cell plasma.