

流行性出血热病毒感染金黄地鼠的实验研究

朱智勇 李岩金 唐汉英 翁景清 付桂明 姚顺荣

(浙江省卫生防疫站, 杭州)

俞永新 董关木

(卫生部药品生物制品检定所, 北京)

提 要

本文证明金黄地鼠对于流行性出血热病毒包括家鼠型和野鼠型毒株均敏感。除口饲外,多途径接种均可使地鼠感染。流行性出血热病毒浙5株1000ID₅₀接种3周龄地鼠,五天后即可在肺、脾、肠、肝等多种组织中检出病毒抗原,至8—10天达最峰,其中肺最强,抗原持续时间至少50天。接种病毒后10天左右,可在血中检出抗体,后缓慢上升,至第50天达1:1280—1:5120。乳鼠感染EHF病毒后可引起全身播散性感染,病毒抗原可在全身软组织中找到。乳鼠感染强毒株可发病致死,但幼鼠和成鼠不表现症状为健康带毒者。

现已知用在流行性出血热病毒(EHFV)的实验动物中,除了采用各自的宿主动物以外^[1],并对实验室饲养的大白鼠^[2]、乳小白鼠^[3]、长爪沙鼠^[4]、家兔等^[5]多种实验动物敏感,这对研究本病的病原学、流行病学、临床和疫苗研制等的不同要求,提供选择所需动物模型的可能性。本文证明金黄地鼠(简称地鼠)亦对EHFV敏感,这为研究本病又供一种新的实验动物。

材 料 与 方 法

一、金黄地鼠 上海生物制品研究所实验动物中心提供、雌雄不分,有明确的鼠龄记录。

二、EHF毒株 浙₃、浙₄、浙₅自黑线姬鼠体内分离,浙₁₀为EHF病人血液中分离,76—118株来自南朝鲜;R₂₂、浙₂₈、浙₃₀、浙₃₄;自褐家鼠体内分离,SR₁₁来自日本,经血凝抑制^[6]和单克隆抗体^[7]证实前五株均为野鼠型毒株,后五株为家鼠型毒株。此10株病毒均在乳小白鼠体内传代多次。

三、抗原检查 被检动物组织经冰冻切片,按直接荧光法进行检查^[8],EHF荧光抗体本室自制。

四、抗体检查 解剖地鼠、心脏采血、分离血清,按间接法进行检查^[9],羊抗Balb/C小鼠IgG血清,来自上海生物制品研究所,本室进行荧光标记。

结 果

一、地鼠对不同 EHF 毒株的敏感性。

选用 EHF 野鼠型和家鼠型毒株，经腹腔接种 3 周龄和 3 月龄地鼠各二只，每只 0.2 ml，8 天后解剖取内脏切片检查，结果表明 3 周龄地鼠对二型毒株均敏感，3 月龄对野鼠型敏感，而对家鼠型除 SR₁₁ 外，敏感性明显减低。如表一所示。

表1 不同毒株对3周龄和3月龄地鼠的感染情况

Table 1 Appearance of EHFV antigen in the tissues of 3-week and 3-month-old hamster after inoculating EHFV strains

毒株 Strains	鼠号 Hamster No.	3 周 龄 3-week-old			3 月 龄 3-month-old		
		肺L	脾S	肠Si	肺L	脾S	肠Si
z30	1	+++	++	+	-	-	-
	2	++	+	+	(+)	(+)	-
z34	1	+	+	-	-	-	-
	2	+++	+	+	-	-	-
SR11	1	++	+	(+)	++	++	++
	2	++	+	++	+++	++	++
z26	1	+++	+	+	(+)	(+)	-
	2	++	+	++	-	-	-
R22	1	++	+	++	+	+	-
	2	++	+	+	+	-	-
76-118	1	++	(+)	+	++	+	(+)
	2	++	+	(+)	++	+	+
z3	1	+++	+	++	+++	++	+
	2	++	(+)	+	+++	+++	++
z4	1	+++	+	++	++	++	++
	2	++	(+)	+	+++	++	+
z5	1	+++	++	+++	+++	+++	++
	2	+++	+	++	+++	++	++
z10	1	+++	++	++	+++	+++	++
	2	+++	++	+++	+++	++	++

抗原强度根据荧光亮度和范围区分“+”“++”“+++”；“(+)”表示经仔细检查才能发现阳性；“-”表示阴性。(下同)

The fluorescent reaction was graded as positive ((+)+ ++ +++) or negative (-) according to the extent of the reaction.

(+); positive reaction could be confirmed only by very carefully.

L; Lung; S; Spleen; Si; Small intestine.

二、不同鼠龄对 EHF 病毒毒株的敏感性。

使用浙₅株 1000ID₅₀/0.2ml (沙鼠体内测定), 经腹腔 (乳鼠经脑内) 接种不同鼠龄的地鼠, 8 天后 (乳鼠12天后) 杀鼠取内脏组织切片检查, 结果表明从乳鼠至 6 个月龄的地鼠均敏感。肺内检出病毒抗原随年龄增长未见明显减弱。

三、地鼠体内检出病毒抗原和抗体的动态观察。

用浙₅株, 感染 3 周龄地鼠 20 只, 每只经腹腔接种 0.2ml (含 1000ID₅₀), 经不同时间杀鼠取内脏切片检查 EHFV 抗原, 并取心脏与血液分离血清测定抗体 (表二)。

表2 感染EHFV病毒地鼠体内抗原和抗体的动态变化
Table 2. Observation on the dynamic changes of EHFV antigen and antibodies in hamsters infected with EHFV z5 strain.

接种后天数 Days after inoculation	检查鼠数 No. of hamster	抗原 Antigen								抗体 Antibodies			
		肺L	脾S	肠Si	脑B	肺L	脾S	肠Si	脑B				
3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	2	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	2	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-
6	2	++	++	+	++	+	++	-	-	-	-	-	-
8	2	+++	+++	+++	++	++	+++	-	-	-	-	-	-
10	1	+++		++		+++		-				1:20	
12	1	+++		+++		+++		(+)				1:20	
14	1	+++		++		+		(+)				1:160	
17	1	+++		++		++		(+)				1:160	
21	1	+++		++		+		+				1:640	
30	1	+++		++		+		(+)				1:640	
50	2	+++	+++	++	+	++	++	+	+			1:5120	1:128 ₀

B; Brain.

四、病毒抗原在鼠体内分布。

我们观察了 EHFV 浙₅株感染不同鼠龄地鼠体内的抗原分布, 结果见表三。从表可知, 随着鼠龄的增大病毒侵犯的组织范围局限, 但肺中均呈强阳性。

五、不同途径接种地鼠的感染情况。

表3 感染浙₅的不同鼠龄地鼠体内的抗原分布
Table 3 Detection of EHFV antigen in tissues of different age hamster infected with EHFV Z5 strain

鼠龄 (天) Age (days)	肺 L	脾 S	肝 Lv	肾 K	心 H	脑 B	小肠 Si	胃 St	肌肉 M	皮肤 Sk	耳 E	尾 T	舌 To
3	+++	++	+++	+++	++	+++	++	+++	+	++	++	++	+
21	+++	++	++	++	+	-	++	++	+	++	++	++	-
90	+++	++	+	+	-	-	++	-	-	-	-	-	-
180	+++	+	+	(+)	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Lv(liver); K(Kidney); H(Heart); St(Stomach); M(Muscle); SK(Skin); E(Ear); T(Tail); To(tongue).

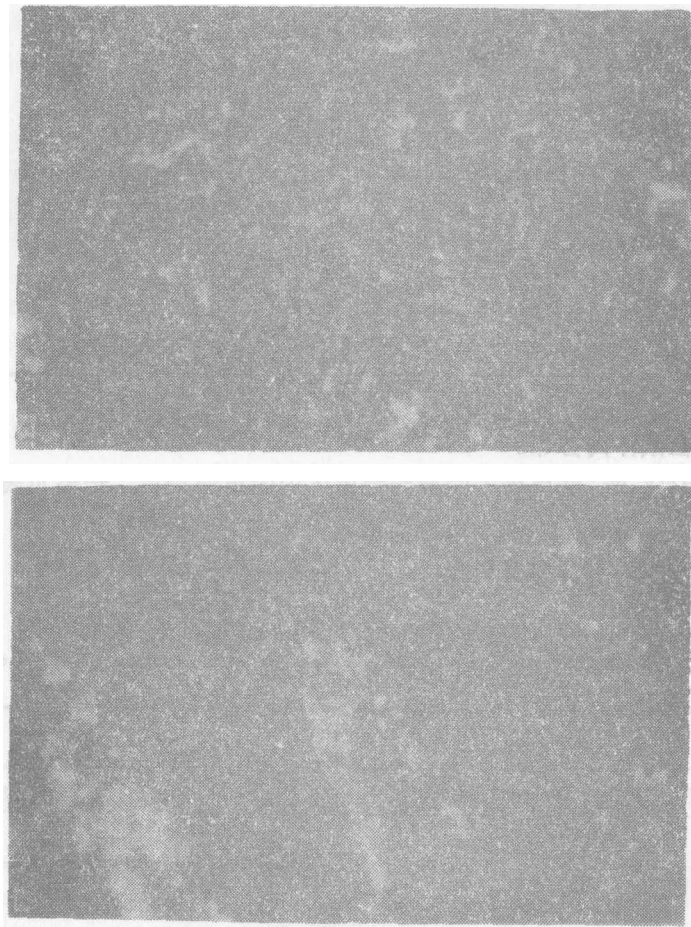
用渐₁₀₀₀ID₅₀ 经肺内(0.1ml)、肌肉、皮下、腹腔(0.2ml)、口饲(0.5—1ml)、接种3周龄地鼠、脑内0.02ml(接种乳地鼠),经8天后,杀鼠取肺、脾、肠切片检查,结果除口饲外(重复二次),其它途径均致感染。

六、EHF病毒感染地鼠的反应。

幼鼠和成鼠感染EHF病毒后,除在体内组织中检出病毒抗原和血液中检出抗体外,外表无明显的病态反应,发育正常行动活泼,少数幼鼠感染后死亡,经切片检查脑内病毒阴性,其他部位也未见特别严重的感染,可能属非特异死亡。乳鼠感染EHF病毒后与乳小白鼠一样可引起全身播散性感染,病毒可在包括大脑在内的所有软组织中大量增殖,强毒株可使乳鼠发病致死。

讨 论

上述结果表明,地鼠亦是对EHF病毒敏感的一种实验动物,表现在:(1)对不同来



EHF病毒在金黄地鼠肺(A)肠(B)切片中的特异荧光(700×)

EHFV agent in lung(A) and small intestine sections of hamster (direct fluorescent antibody staining method, 700×)

源包括家鼠型和野鼠型毒株均敏感, 病毒抗原可在地鼠体内多种组织内增殖; (2) 不同鼠龄的地鼠对野鼠型毒株敏感, 但成鼠对一些家鼠型毒株敏感性明显降低, 乳鼠可引起全身播散性感染, 强毒株可使乳鼠发病致死; (3) 除口饲外, 多途径接种包括肌肉、皮下、腹腔、肺内、脑内(乳鼠)均可使地鼠感染; (4) 接种 EHFV 后的地鼠带毒时间较长, 并有明显的抗体反应。

与其它敏感动物相比, 地鼠受感染的特性表现在: 1. 成年地鼠对家鼠型敏感性差, 这恰恰与大白鼠相反, 成年大白鼠对野鼠型毒株敏感性差, 而黑线姬鼠、长爪沙鼠、家兔对二型毒株均敏感; 2. 带毒时间长, 超过一个月以上, 当体内产生较高的抗体时肺内抗原仍呈强阳性, 这与本病的自然宿主黑线姬鼠相似, 但与产生抗体持续时间不久、体内抗原很快消失的长爪沙鼠和家兔不同, 而产生抗体的速度和强度似乎均较黑线姬鼠、长爪沙鼠、家兔等缓慢。

根据上述特点, 其用途可能亦较广泛: 1. 可用于对不同来源的标本进行病毒分离, 以幼鼠或乳鼠为宜; 2. 可用于测定 EHF 灭活疫苗的保护力的动物模型, 若利用野鼠型攻击, 幼鼠成鼠均可, 若用家鼠型毒株攻击, 则以幼鼠为宜; 3. 乳鼠可用于测定 EHFV 的毒力和病毒传代增毒; 4. 感染鼠的肺、脑和其他组织经冰冻切片制成的抗原片用于血清学的特异性诊断。

参 考 文 献

- [1] 宗干等, 1982, 中国医学科学院学报 4: 73
- [2] Lee H. W. et al. 1982, *J. Infect. Dis.* 146: 633.
- [3] Tsai T. F. et al. 1982, *Lancet* 8296: 503.
- [4] 朱智勇等, 1984, 微生物学报 24: 92
- [5] 朱智勇等, 1985, 中华微生物学和免疫学杂志 5: 49
- [6] 严玉辰等, 1986, 中华流行病学杂志 7: 135
- [7] 陈伯权等, 1985, 中华微生物学与免疫学杂志 5: 136
- [8] 朱智勇等, 1985, 中国公共卫生 4: 36
- [9] Lee H. W. et al. 1978, *J. Infect. Dis.* 137: 248

Study on the Hamster Infected with Epidemic Hemorrhagic Fever Virus

Zhu Zhi-yong Li Yan-jin Tang Han-ying
Weng Jing-qing Fu Gui-ming Yao Shun-rong
(Zhejiang Health and Anti-epidemic Station, Hangzhou)

Yu Yong-xin Dong Guan-mu

(National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing)

It was shown in our study the hamster is susceptible to Epidemic Hemor-

rhagic Fever Virus (EHFV) including the wild-mouse type (strains Z_3 , Z_4 , Z_5 , Z_{10} , 76—118) and the house-rat type (strains Z_{26} , R_{22} , SR-11, Z_{30} , Z_{34}). The hamster was successfully infected intramuscularly, intraperitoneally, subcutaneously and intrapulmonaryly or intracerebrally (suckling hamster) but not orally. EHFV antigen appeared in lung 5 days after inoculation of EHFV strain Z_5 and persisted for at least 50 days. EHFV antigen was detected in adult hamster in various organs including lung, liver, kidney, spleen and intestine, especially in lung, the suckling hamsters have resulted in disseminated infection, viral antigen was found in soft tissue of the whole body such as brain, muscle, skin, tail, ear etc. besides lung, liver, kidney, spleen, heart. The appearance of antibody to EHFV in hamsters is 10—12 days after inoculation of EHFV, the 1:5120 titres were observed at the 7th week. The adult hamsters inoculated with EHFV showed no overt disease, but EHFV which passage in the brain of suckling mice causes disease and death among suckling hamsters.