

草鱼出血病病毒的血清学鉴定

柯丽华 方勤 余兰芬 丁清泉 蔡宜权

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉430071)

提 要

草鱼出血病病毒(GCHV)具有弱的凝集人“O”型红血球的能力。其抗体与呼肠孤病毒、轮状病毒不发生免疫反应,说明此病毒与上述病毒无共同的抗原关系。

关键词: 草鱼出血病病毒 免疫反应 血凝试验

草鱼出血病病毒(Grass Carp Hemorrhage Virus, 简称GCHV)是引起草鱼死亡的病原。1984年,初步鉴定为鱼呼肠孤病毒^[1],近几年对新分离的两株分离物进行了形态结构^[2,3]、基因组和多肽^[3,4]、生长特性^[5]、理化因素的影响^[4]以及RNA聚合酶等方面的系统研究,认为此病毒具有呼肠孤病毒科的主要特征,但有别于业已建立的6个属。进一步弄清该病毒与呼肠孤病毒、轮状病毒的抗原关系,有助于其分类地位的确定,因此我们又进行了血清学及抗原关系的研究,其结果报道如下。

料 料 与 方 法

一、病毒 草鱼出血病病毒(GCHV)为本实验室分离;人轮状病毒(HRV)由武汉市儿童医院提供小儿腹泻粪便样品,本实验室分离及纯化;呼肠孤病毒E₁为解放军302医院病毒室惠赠。

二、试剂

- (1) 人轮状病毒检测试剂盒,购自兰州市生物制品所。
- (2) GCHV检测试剂盒,本实验室研制。

三、红血球凝集试验 首先配制10%红血球悬液(取10ml新鲜人O型血液,加入1.5ml CPD抗凝剂,用适量生理盐水稀释后经1000r/m离心5分钟,沉淀再用生理盐水洗三次,最后将压积红血球配成1%的悬液),在园底孔反应板上,分别加各病毒样品500 μ l于孔内(500 μ l生理盐水为阴性对照),然后各孔再加入500 μ l 10%人O型血球悬液,温和振荡使之混合均匀,置室温下30分钟到1小时,观察试验结果。

四、酶联免疫试验 按试剂盒的说明进行试验。反应结果在DG3021型酶联免疫检测仪上测定OD值。

结 果 与 论 讨

一、红血球凝集试验

本文于1991年3月5日收到,6月21日修回。

血球凝集试验得到本所罗经副教授的协助,武汉儿童医院及解放军302医院病毒室提供病毒样品,在此一并表示感谢。

许多病毒的包膜中含有能凝集红血球的蛋白质, 因而使它们具有凝集红血球的能力, 这种能力的大小或有无因病毒的种类而异。从表1的结果看出, GCHV与呼肠孤病毒E₁₈、兔细小病毒一样, 可以凝集人O型血球, 但GCHV为弱凝集反应(图1A、Aa)

表1 几种病毒对人O型红血球的凝集反应

Table 1 Haemagglutination of human type O blood cells to several viruses

样品 samples	GCHV	E ₁₈	RHDV*	HRV	阳性对照 negative control
结果 results	+	+++	+++	-	-

*兔细小病毒

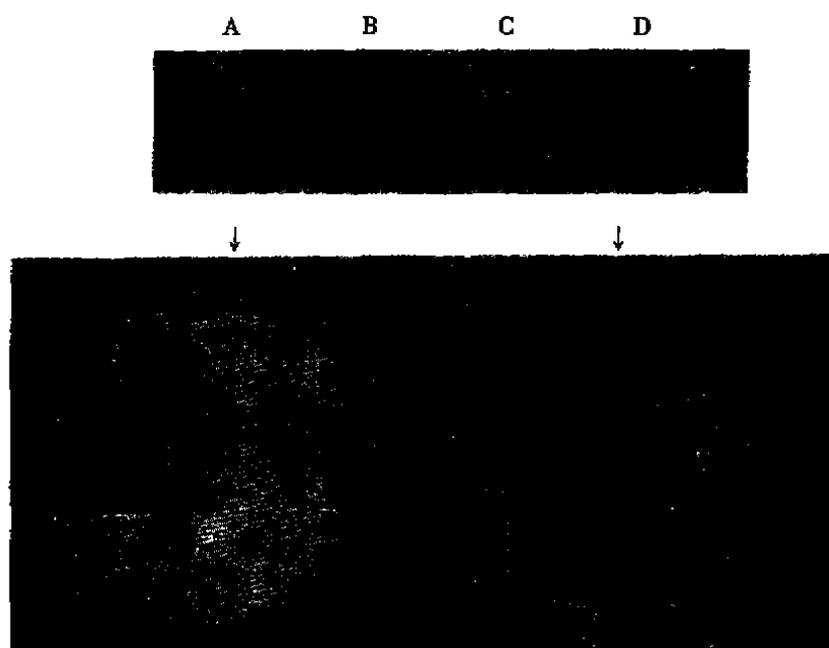


图1、三种病毒与人O型红细胞凝集反应的光镜照片

A, GCHV, B, HRV, C, E₁₈, D, 生理盐水

Aa, 部分A样品的放大, 箭头指示凝集的红血球

Dd, 部分D样品的放大

Fig 1 Optical micrographs of the haemagglutination of human type O blood cells to three viruses

A, GCHV, B, HRV, C, E₁₈, D, 0.85% NaCl

Aa, Amplifying partial sample A, arrow shows agglutinating blood cells

Dd, Amplifying partial sample D

这与J.R. Winton报道的两种水生动物病毒(大马哈鱼病毒CSV和牡蛎病毒¹⁸P₂)为凝集阴性不同, 是否因不同种类的水生动物病毒有所差异或弱凝集易被忽视。人轮状病毒在凝集试验中为阴性反应。总之, 根据试验结果说明, GCHV在凝集人O型血球的能力上不同于人轮状病毒, 而与呼肠孤病毒大体一致, 三种血清型的呼肠孤病毒都能凝集人O血型球^[7]。

二、酶联免疫试验

采用 ELISA 法对两种抗体与三种呼肠孤病毒科成员进行交叉试验, 其结果见表 2。

表2 交叉反应
Table 2 Cross reaction

病 毒 viruses	抗 血 清 antisera OD ₄₁₁	
	HRV	GCHV
GDHV	0.175	0.898
HRV	0.985	0.135
E ₁₁	0.123	0.124
阴性对照 negative control	0.163	0.144

表 2 看出人轮状病毒抗体与人轮状病毒有很深的颜色反应, 而与 GCHV 及 E₁₁ 反应的 OD 值则相似于阴性对照。在 GCHV 抗体与上述病毒反应的一组试验中, 也只有 GCHV 呈阳性反应, 其他两种病毒为阴性。说明 GCHV 与人轮状病毒、呼肠孤病毒均无抗原关系。呼肠孤病毒与人轮状病毒之间也无共同抗原成分。

鉴于所用人轮状病毒抗体 IgG 是可检测人和动物轮状病毒的试剂 (见试剂使用说明), 以及轮状病毒内层衣壳上具有共同抗原的特点⁽⁸⁾, 所以用 GCHV 抗体与 GCHV 和 HRV, 及 HRV 抗体与 GCHV 和 HRV 交叉试验结果说明, GCHV 不仅与人轮状病毒没有抗原关系, 与轮状病毒属成员也无抗原关系。

参 考 文 献

- 〔1〕 中国科学院武汉病毒研究所、中国水产研究院长江水产研究所沙市分所草鱼出血病协作组, 1984, 淡水渔业 (4): 7—9。
- 〔2〕 中国科学院武汉病毒研究所、中国水产研究院长江水产研究所沙市分所草鱼出血病协作组, 1984, 淡水渔业 (2): 21—22。
- 〔3〕 王炜等, 1989, 病毒学报 6(1): 44—49。
- 〔4〕 柯丽华等, 1990, 水生生物学报 14(2): 153—159。
- 〔5〕 方勤等, 1989, 病毒学杂志 (3): 315—319。
- 〔6〕 Winton J.R. et al., 1981, *J. Gen. Virol.* 68: 356—364。
- 〔7〕 Joklik, W.K., 1983, In *The Reoviridae*, pp. 1—78. Edited by W.K. Joklik, New York, Plenum Press.
- 〔8〕 Holmes, I.H., 1983, In *The Reoviridae* pp. 359—423, Edited by W.K. Joklik, New York, Plenum Press.

Serological Identification of Grass Carp Hemorrhage Virus

Ke Li-hua Fang Qin Yu Lan-fen Ding Qing-quan

Cai Yi-quan

(Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan 430071)

The Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) Hemorrhage Virus (GCHV) is able to cause slight haemagglutination of human type O blood cells. Serological tests showed that the GCHV is not antigenically related to Reovirus and Rotavirus by cross reaction with ELISA.

Key words, Grass carp hemorrhage virus Immune reaction
Haemagglutination test