

## 四种动物病毒的细胞培养及血凝检测的比较研究

李天宪 赵林 罗怡珊 冯锋

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430071)

关键词 细小病毒, 细胞培养, 细胞病变, 血凝试验

云豹肠炎病毒(LPV)、水貂肠炎病毒(MEV)、犬肠炎病毒(CPV)和猫泛白细胞减少症病毒(FPLV)等四种细小病毒,其理化和生物学特性十分相似。均能凝集猪红细胞,但文献记载其血凝(HA)条件各不相同。本文建立了统一的、适用于4种病毒的HA技术,并系统观察了它们在FK<sub>81</sub>细胞上的培养特性,比较了其细胞培养物的HA活性,为疫苗的生产 and 检测提供了技术和科学依据。

细胞培养按常规方法进行,当培养至细胞生长达80%左右时,分别接种4种细小病毒,吸附1小时后,加入维持液,33℃继续培养4—5天,当出现细胞病变(CPE)达50—75%(++—+++ )时,收获病毒液。血凝效价检测采用微量滴定法,在96孔“V”型板上进行。采用两种稀释液。A液为含0.5%灭能兔血清的pH6.0、0.015mol/L PBS;B液为含0.1%牛血清白蛋白的pH6.4、0.015mol/L PBS。病毒细胞培养物作倍比稀释,加0.5%猪红细胞,置4℃作用2小时,观察HA效价。

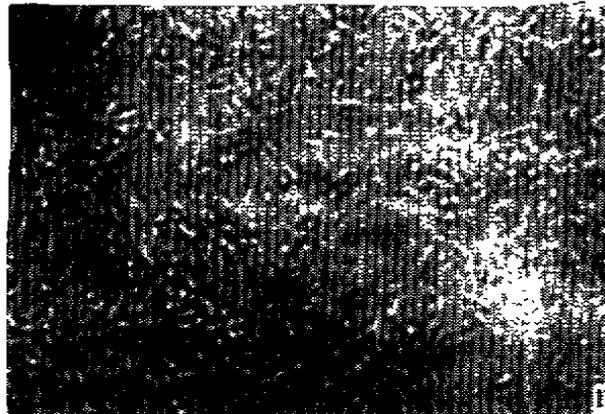


图1 FK<sub>81</sub>细胞培养第四天  
Fig. 1 FK<sub>81</sub> cell cultured for four days

• 本文于1993年6月17日收到,9月14日修回

在 FK<sub>81</sub> 细胞上培养 4 种细小病毒均在接毒后 4—5 天出现明显细胞病变,其特征是病变细胞增大变圆,细胞间出现网状空隙,尤以 MEV 和 CPV 较明显(图 3、4);FPLV 和 LPV 病变细胞变大呈多角形,病变细胞较为密集(图 2、5);对照 FK<sub>81</sub> 细胞呈梭形,细胞间隙均一(图 1),与接毒后的细胞有明显区别。

4 种细小病毒的细胞培养病变(CPE)和两种血凝方法的比较见下表。

表 1 四种细小病毒细胞培养 CPE 和两种血凝方法的结果  
Tab. 1 CPE of FK<sub>81</sub> Cells infected with four parvoviruses and the result of two HA methods

毒株 Virus strains	试验组别 No. of group	CPE/天数 CPE/days	血凝试验效价	
			HA	
			A 液 method (A)	B 液 method (B)
FPLV	1	+++/4	1:128	1:1024
	2	+++/5	—☆	1:1024
	3	++/4	1:16	1:512
	4	+++/4	1:128	1:2048
MEV	1	++/5	1:128	1:512
	2	+++/5	1:128	1:2048
	3	+++/4	1:512	1:2048
	4	+++/4	1:128	1:4096
CPV	1	+++/4	1:512	1:1024
	2	+++/4	1:128	1:1024
	3	++/5	—	1:512
	4	+++/5	—	1:1024
LPV	1	+++/5	—	1:512
	2	++/4	1:64	1:256
	3	+++/5	1:16	1:1024
	4	+++/5	1:128	1:1024

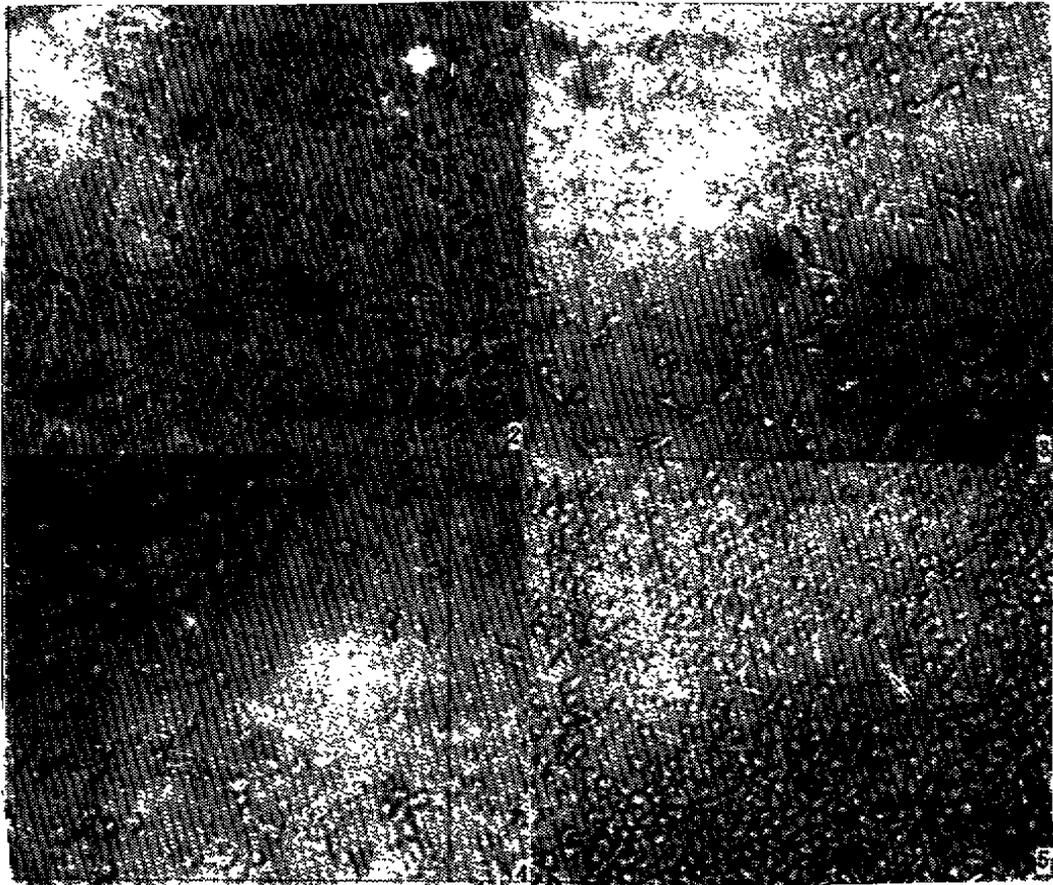
注:☆表示自凝现象

Note:☆ Autoagglutination

结果表明,2 种稀释液比较,B 液显著优于 A 液,除 LPV 中 1 例为 HA 价 1:256 外,其余均  $\geq 512$ ,HA 效价在 1024 以上者占 11/16(69%),最高达 4096。HA 价稳定,批间差异不大;4 种病毒之间差异也不显著。而用 A 液检测的 HA 价均在  $\leq 256$ ,其中有 4/16(25%)未测出 HA,效价不稳定。

4 种细小病毒均能适应在 FK<sub>81</sub> 细胞上增殖,虽 CPE 略有不同,但出现 CPE 时间则基本一致。CPE 的程度与 HA 值似有一定正相关性,在应用 B 液的试验中,CPE 为 ++ 者 HA 值均低。

鉴于以上结果,我们建议在生产 LPV、MEV、CPV 和 FPLV 细胞培养单苗或联苗时,可采用同一操作规程和检测(HA)技术,以  $HA \geq 512(2^9)$  为标准。在 CPE 达 ++ 时,如  $HA \geq 512$ ,即可以第一次收获。然后加入营养液继续培养至第 7 天进行第二次收获,这样可望提高收毒量,降低育苗成本。

图 2 猫泛白细胞减少症病毒, CPE<sub>III</sub>/4 天图 4 犬肠炎病毒, CPE<sub>III</sub>/5 天Fig. 2 FPLV, CPE<sub>III</sub>/four daysFig. 4 CPV, CPE<sub>III</sub>/five days图 3 水貂肠炎病毒, CPE<sub>III</sub>/5 天图 5 云豹肠炎病毒, CPE<sub>III</sub>/5 天Fig. 3 MEV, CPE<sub>III</sub>/five daysFig. 5 LPV, CPE<sub>III</sub>/five days

## 参 考 文 献

- 1 张振兴. 经济动物细小病毒研究进展. 南京农学院内部资料. 1988;65~70
- 2 张存, 张振兴. 猫瘟热诊断及免疫的研究. 中国畜禽传染病, 1990;2: 47~48
- 3 林逢生. 猫、水貂及犬细小病毒的比较. 中国畜禽传染病, 1988;6: 57~59
- 4 廖延雄主译. 病毒的分类与命名(国际病毒分类委员会第四次报告). 北京: 科学出版社, 1987;113~115
- 5 I. Vaček, K. F. Lawson. Cana Vet J, 1976; 12: 301~308
- 6 James, L. B. Infections of wild Mammals, The State University press. 1980: 29: 97~101

## Comparison of Tissue Culture and Hemagglutination between Four Animal Viruses

Li Tianxian Zhao Lin Lou Yuson Fong Fong

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

All of the Leopard Parvovirus (LPV), Mink Enteritis Virus (MEV), Caine Parvovirus (CPV) and Feline Panleukopenia Virus (FPLV) can be bred on  $FK_{81}$  cell. At the meantime, two different Hemagglutinations are taken and compared. Through experiments, we have found one HA method which is simple, accurate and stable.

**Key words** Parvovirus, Tissue culture, Hemagglutination (HA), Cytopathogenic effect (CPE)