

我国一种鸚鵡新病毒的分离

冯 锋 夏 苇 赵 林 陈绳亮

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430071)

龚少宇 ✓

5852.65

(湖北省云梦县畜牧局, 湖北云梦 432500)

关键词 鸚鵡病毒, 病毒分离, 长尾小鸚鵡

动物病毒

国外有关鸚鵡病毒的研究不少, 1981年 Perry 从澳大利亚鸚鵡体内分离到一种直径为 20 nm, DNA 约 2.0 kb 的病毒粒子, 即鸚鵡喙羽病病毒(psittacine beak and feather disease virus, PBFDV.); 美国学者 Bozeman^[1] 1981年从濒死的鸚鵡脏器中成功地分离到一种病毒, 大小在 42~50 nm 之间, 归属在乳多空病毒科; Szeleszczuk^[2] 1990年描述了波兰第一例鸚鵡疾病, 其病原为一种疱疹病毒; 1994年 Arshad^[3] 报道了鸚鵡能被新城疫病毒感染这一事实。我国学者刘汉忠^[4] 在 1993年也曾报道过鸚鵡新城疫病, 但有关鸚鵡其它病毒未见有分离的报道。1995年, 我们从湖北濒死鸚鵡体内分离到一种大小约 50 nm 的病毒粒子, 经初步纯化后在健康的澳洲长尾小鸚鵡上复制了病例。本研究旨在为该病毒的进一步研究和分类地位的确定提供了依据。

材料和方法

- 1 标本的采集及处理 取具典型症状的濒死鸟若干只, 无菌条件下取病灶剪碎后, 按 1:5 的比例加进含双抗的无菌生理盐水, 通过组织捣碎机 10000 r/min 捣碎 5 min, 4℃ 浸泡过夜。经 10000 r/min 高速离心 30 min 后, 取上清 40000 r/min 超速离心 2 h, 弃上清, 沉淀用少量的 pH 7.3 PBS 悬浮过夜。
- 2 柱层析提纯病毒粒子 Sepharose-2B 层析柱床体积为 1.6 cm × 50 cm, 洗脱液为 pH 7.3 PBS 平衡后加入 2 mL 病料处理液, 流速为 28 mL/h, 在 XZ-85-1 核酸蛋白检测仪下监控, 描绘 280 nm 处洗脱曲线, 收集洗脱峰, 40000 r/min 离心 2 h, 用少量平衡液悬浮沉淀。
- 3 电镜观察 参考文献^[5], 取病毒悬液于粘有 Formvar 膜的铜网上, 晾干后负染 2~5 min, 置电镜下观察摄影。
- 4 回归本动物实验 选取健康的鸚鵡幼雏(均小于 5 日龄)3 只, 每只皮下注射纯化的病毒液 0.1 mL 及口服 0.025 mL, 同时设同龄健康鸚鵡 3 只做正常对照, 观察一个月。

结果与讨论

- 1 浓缩的病毒液经 Sepharose-2B 柱层析, 40 min 开始出现一个主峰, 稍后出现两个次峰(见图 1), 经电镜检测主峰为病毒峰, 表明所提病毒较纯。

2 病毒在电镜下为球状,呈二十面体立体对称,颗粒大小均匀,平均大小为 50 nm(见图 2)。

3 我国流行的鸚鵡幼雏疾病,因其高死亡率已引起了国内诸多同行专家的高度重视,对其病毒的确切却各有己见,尤其支持鸚鵡衣原体和新城疫病毒的学者居多。我们从纯化的病毒中抽提的核酸通过紫外线 Uv-300 型双光束分光光度计扫描,呈典型病毒核酸曲线, $OD_{260}/OD_{280} = \frac{0.633}{0.347} = 1.82$ (另文发表)。病毒粒子回归到健康的鸚鵡幼雏,结果发现幼雏羽毛发育受阻,肝脏肿大,心包积液,直至死亡等典型的临床症状。因此可以断定该病毒粒子是引起鸚鵡幼雏死亡的主要病原,从大小形态上看,它不同于新城疫病毒。至于该病毒的分类位置,有待进一步研究。

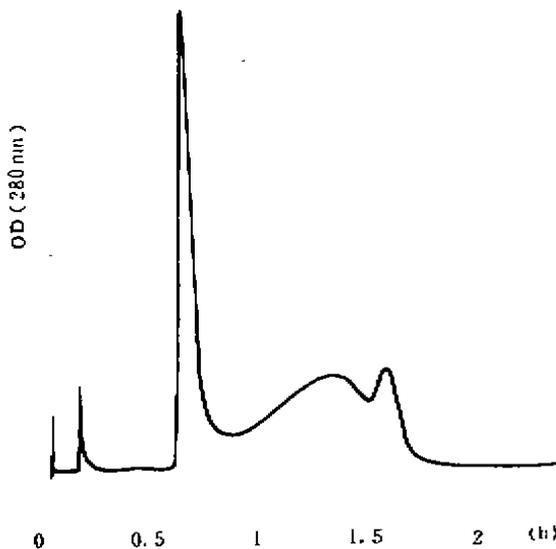


图 1 Sepharose-2B 柱层析 280nm 吸收曲线

Fig. 1 Absorptive curve of the virions filtering through Sepharose-2B



图 2 高倍镜下的病毒粒子照片(30000×3)

Fig. 2 Electron micrograph of virions

参 考 文 献

- 1 L. H. Bozeman, R. B. Davis, D. Gaudry *et al*. Characterization of papovavirus isolated from fledgling budgerigars. *Avian Disease* 1981, 25(4):972~981
- 2 Szeleszczuk, Piotr, Zenon Minta *et al*. First cases of Pacheco's parrot disease diagnose in Poland. *Med Weter* 1990, 46(12):469~471
- 3 Arshad M, Rizvi A R, Naeem M *et al*. Newcastle disease virus in Faeces of Doves, Parrots and Quails. *Pakistan Veterinary Journal*, 1994, 14(3):132~134
- 4 刘汉忠, 梁锋. 鸚鵡新城疫的诊断. *中国兽医杂志*, 1993, 19(1):34
- 5 郑红, 赵林, 孙富林. 兔的一种新病毒 II. *微生物学报*. 1992, 32(3):198~203