

出血热病毒株的分型和抗原性 比较的进一步研究

俞永新 姚智慧 安祺

(中国药品生物制品检定所, 北京100050)

R373.32

提 要

本工作进一步对分离自不同来源的14株出血热病毒用空斑减少中和试验(PRNT)方法进行了分型。以不同株的家兔免疫血清对国际上血清I型和II型参考毒株进行试验,除分离自褐家鼠的K₂₄株外,其余13株均可定为血清I型或血清II型。用已知的I型和II型出血热高价免疫血清与K₂₄株进行中和试验,根据两型免疫血清的中和效价则可将K₂₄株定为血清II型,但是K₂₄株免疫血清对6株I型病毒和4株II型病毒的中和效价几乎相同(相差≤2倍),表明K₂₄株是一株具有广谱中和抗原的出血热病毒。

关键词: 流行性出血热病毒株 空斑减少中和试验 血清分型 抗原性分析

流行性出血热; 病毒株; 分型; 抗原性

我们报道了对我国出血热病毒株的分型和抗原性的比较研究^[1,2],确定了一些毒株的分型,同时还发现一株中和抗原性广谱的病毒株Gou₅。本文又对不同来源的14个毒株进行了分型和抗原性比较,现将结果报道如下:

材 料 和 方 法

毒株和免疫血清:国际标准株76-118和UR株由南朝鲜李镐汪分离,由中国预防医学科学院病毒所提供,其余试验用毒株来源见文献^[1,2],待分型毒株的免疫血清C₄、A₉₄、R₁₇₃、R₂₅、R_r由安徽医科所提供,Z₃₇、Z₅₄、K₂₄由浙江省卫生防疫站提供,Q₁₅、Q₂₀、Q₃₁、Q₃₃由贵州省防疫站提供,E₁₄₂由云南流行病防治研究所提供,J_r由长春生物制品研究所提供,均为家兔免疫血清。其余用于K₂₄株鉴定用血清来源见文献^[1,2]。

空斑减少中和试验方法按作者以往报道方法^[3]并以抑制80%空斑形成为标准判定结果^[4]。

结 果

一、用两株标准病毒株检测不同来源毒株免疫血清中和效价
用14株病毒免疫血清分别对国际标准株I型(76-118)和II型(UR)株进行空斑

本文于1991年5月25日收到,9月18日修回。

减少中和试验结果列于表1。根据两型间滴度相差4倍的结果分析, 分离自黑线姬鼠的三株病毒(A₉₀、Q₂₀、Q₃₁)均为血清I型, 分离自褐家鼠的7株病毒, 一株(K₂₄)不能定型, 4株(R₂₅、Z₃₇、Z₃₈、Q₁₅)为血清II型, 2株(R₁₇₈、Q₃₃)为I型。分离自家兔(JR), 滇绒鼠(E₁₄₂)和家猫(C₄)的三株病毒均为血清I型, 分离自大白鼠的一株(Rr)为血清II型。

表1 用出血热病毒I型和II型参考株对不同毒株免疫血清进行分型
Tab.1 Typing of antisera to different HFRS virus strains with type I and type II reference strains

免疫血清 Immune sera	病毒来源 Source of viruses	中和抗体滴度 Titers of neutralizing antibody against	
		76-118(type I)	UR(type II)
A ₉₀	黑线姬鼠 A. agrarius	320	<40
Q ₂₀	黑线姬鼠 A. agrarius	>160	<10
Q ₃₁	黑线姬鼠 A. agrarius	>160	<10
R ₁₇₈	褐家鼠 R. norvegicus	>320	<20
R ₂₅	褐家鼠 R. norvegicus	20	<160
Z ₃₇	褐家鼠 R. norvegicus	20	80
Z ₃₈	褐家鼠 R. norvegicus	20	80
K ₂₄	褐家鼠 R. norvegicus	640	320
Q ₁₅	褐家鼠 R. norvegicus	40	>160
Q ₃₃	褐家鼠 R. norvegicus	160	<20
Rr	大白鼠 Rat	80	>160
Jr	家兔 Rabbit	>160	<10
E ₁₄₂	滇绒鼠 E. elousis	160	<10
C ₄	家猫 Cat	>640	80

由于K₂₄株免疫血清对两型病毒的抗体滴度只差2倍无法定型, 进一步用已知I型和II型高价免疫血清对K₂₄病毒株进行中和抑制试验, 结果三株I型血清(B₅、A₁₀、Chen中和效价320~2560)不能中和K₂₄病毒或中和滴度很低(均<80), 而二株II型血清(SR₁₁、R₂₂中和效价320)却能很好的中和K₂₄病毒, 中和滴度达320和640, 表明K₂₄病毒株可定为血清II型。

二、K24株的抗原谱分析

为了解K24血清是否对I型(76-118株)和II型(UR株)以外的其他出血热两型病毒亦具有广谱的中和作用。我们又选择已定型的另5株I型病毒和3株II型病毒与K₂₄

表2 K₂₄株免疫血清对两型不同毒株的中和效价
Tab.2 The neutralizing antibody titers of anti-K₂₄ serum to different HFRS virus strains in both types by PRNT

I型(type I)		II型(type II)	
毒株 Virus strains	滴度 Titer	毒株 Virus strains	滴度 Titer
76-118	640(640)*	UR	320(1280)
Chen	>320(640)	R ₂₂	640(>640)
A ₁₀	640	Hubei-1	(>640)
A ₉	640	K ₂₄	(1280)
A ₅₃₇	>320		
HB ₂₅	(>640)		

*另一份K₂₄免疫血清
Another pool of K₂₄ antiserum

血清进行空斑减少中和试验。现将结果合并列于表2:

由表2可见K₂₄免疫血清对6株I型病毒和4株II型病毒(包括K₂₄株本身)均有几乎相同的中和效价或最多相差2倍,表明K₂₄株是一株中和抗原性广谱的出血热病毒株。

讨 论

我们报告过用空斑减少中和试验对12株来源不同的HFRS病毒进行抗原分型,获得分型明确的结果^[1,2],本文又通过对14株病毒的分型进一步证实PRNT法分型的特异性高,较血凝抑制方法分型明确可靠^[1]。我们还指出从褐家鼠中可分离出个别的I型(野鼠型)病毒,本文的分型结果又表明了相同的结果。而从黑线姬鼠来源的病毒未分离到II型(家鼠型)病毒,一株从实验室大白鼠分离的病毒(R₁)为II型与国外报告一致^[1]。综合本文及前文报告^[1,2]表明从同一种宿主动物可分离到二种血清型的出血热病毒,同一血清型的病毒又可以从多种动物分离到。因此,这一结果支持李镐汪^[4]提出的对汉坦病毒科的分类应以血清型区分而不应以分离到病毒的动物来源区分(所谓野鼠型和家鼠型病毒)的观点。

继前文^[4]我们发现Gou3株为中和抗原性广谱毒株后,本文我们又报道了另一株K₂₄中和抗原性广谱的毒株,这些毒株的发现对研究出血热病毒的抗原结构、在自然界中的变异及其与宿主来源的关系、特别对于筛选具有广谱中和抗原的疫苗候选株具有重要意义。

参 考 文 献

- (1) 俞永新等, 1991, 病毒学报 7: 18。
- (2) 俞永新等, 1991, 中华微生物和免疫学杂志 11: 162。
- (3) 姚小剑等, 1988, 病毒学报 4: 347。
- (4) Schmaljohn C.S. et al., 1985, Science 222: 1041.
- (5) 俞永新等, 中华实验与临床病毒学杂志(待发行)。
- (6) Lee H.W. et al., 1990, Arch Virol. (Suppl 1): 5-18。

Further Studies on Serotyping and Antigenic Analysis of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Viruses by Plaque Reduction Neutralization Test

Yu Yong-xin Yao Zhi-hui An Qi

(National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050)

Serotypic classification of 14 HFRS virus isolates from different sources were studied using plaque reduction tests (PRNT) sera of rabbits inoculated with different HFRS viruses were tested against reference type-1 Hantaan virus and type-2 Seoul virus. The results indicated that except one strain (K_{24}), all the 13 isolates could be classified into either serotype 1 or serotype 2 according to the differences (≥ 4 fold) of the neutralizing titers between the sera reacted against reference type 1 and type 2 viruses. However the isolate K_{24} from R novogicus could be classified as type 2 by using known type 1 and type 2 virus antisera for neutralization with the K_{24} virus.

In this study the K_{24} strain was shown to be an antigenically broad HFRS virus as K_{24} antisera reacted with 6 type 1 and 4 type 2 strains to similar neutralizing titers (≤ 2 -fold difference).

Key words, HFRS virus Plaque reduction neutralization tests
Serotyping Antigenic analysis