

# 流行性出血热病毒的形态研究

## I 在人二倍体细胞内病毒繁殖的电镜观察

蔡保健<sup>1\*</sup> 李 烽<sup>1</sup> 刘学礼<sup>2</sup> 严玉辰<sup>1</sup> 孟庆海<sup>2</sup> 李志仁<sup>2</sup> 孔令雄<sup>1</sup>

流行性出血热(EHF)病毒已从黑线姬鼠分离并适应于A-549细胞和Vero细胞<sup>[1,2]</sup>,但对病毒的形态研究报告不多。McCormick, White等用免疫电镜方法观察了南朝鲜出血热(KHF)细胞外的病毒形态,认为属于布尼亚科病毒<sup>[3,4]</sup>。至今尚未见到病毒在细胞内发育的形态,也未见到将EHF病毒适应到正常细胞(原代细胞和人二倍体细胞)的报道。我们从1981年开始将EHF病毒适应到人的二倍体细胞。本文报告EHF病毒在这种细胞内繁殖的电镜形态研究。

### 材料和方法

一、病毒株来源: EHF 41D毒株,系用间接荧光抗体试验(IFAT)阳性的黑线姬鼠肺组织悬液,感染人胚肺二倍体细胞。在传至6~8代后,用IFAT作了鉴定,证实为EHF病毒。

二、细胞来源: 人胚肺二倍体细胞,为2BS株,由卫生部北京生物制品研究所提供。

三、电镜标本制备: 用EHF 41D株第9代病毒感染2BS细胞,感染后第5天、第7天和第10天从方瓶中刮取,离心收集细胞。上清与抗血清结合,经高速离心制备电镜负染色标本。低速离心收集的细胞以2%缓冲戊二醛和1%缓冲四氧化锇两次固定,缓冲液充分洗涤,再经丙酮系列脱水,以环氧树脂600<sup>#</sup>进行浸透并包埋,78°C烤箱中聚合后,进行超薄切片,薄片以醋酸铀及枸橼酸铅复染,用DXB<sub>2</sub>-12型和JEM-100cx电子显微镜观察、拍照。

### 观察结果

2BS细胞感染EHF病毒10天后,在感染细

胞内外均看到病毒颗粒。这种病毒多数为椭圆形及球形。病毒颗粒大小极不一致,颗粒的最外面有一层包膜,膜内有一明显的透明环。病毒的中心部位可见病毒蛋白颗粒,有些还有卷曲的细纤维丝,由于病毒蛋白颗粒密度不同,在电镜下可将EHF病毒分为两种。一种为均质中等电子密度,即蛋白颗粒间结合较差,故显得疏松,一般这种形态结构的病毒直径较大,大部分为120~160毫微米。另一种病毒颗粒中心电子密度较强,病毒蛋白颗粒结合较紧,表现的致密度大。这种病毒也可见最外面有一层包膜,包膜内面也有一透明环,把病毒的包膜与中心部分隔开。一般这种病毒颗粒直径略小,约为110~150毫微米(图1、2A,见插图页,后同)。有少量病毒直径为80~100毫微米,而最大的可在200毫微米左右。

经负染色的EHF病毒为椭圆形,有些为球形,有一层较厚的包膜,表面可见规则的突起,直径为110~160毫微米(图2B)。

感染EHF病毒第5天、第7天的细胞中,可见细胞线粒体肿胀,内质网扩大,胞质内出现大量空泡。在空泡边缘有类似病毒蛋白颗粒的聚集,形成新月形、半圆形或马蹄形。病毒主要是单个散在于细胞质中膜状物边缘,或在空泡内外。少数病毒成堆存在,成熟病毒释放到细胞外(图3、4、6)。

电镜下还可见EHF病毒在感染细胞的细胞膜内装配病毒包膜的图像。在细胞膜内膜边缘有病毒蛋白颗粒聚集,或已形成圆形结构时,

1 中国医学科学院流行病学微生物学研究所。

2 黑龙江省卫生防疫站。

\* 现调卫生部药品生物制品检定所。



细胞膜向外逐渐膨出,出现丘状突起,有的细胞膜向外膨出较大,如希腊字母Ω形,装配包膜逐渐成熟的圆形病毒颗粒与细胞膜仅有一茎蒂相连。在细胞膜发芽形成病毒中,可看到胞质内有病毒蛋白颗粒(图5A、5B、5C)。

### 讨 论

EHF在欧亚许多国家都有发生,是一种病死率较高的急性传染病。近年来,从黑线姬鼠已分离到该病病原<sup>[1,2]</sup>,并适应到A-549及Vero细胞,但尚未见到EHF病毒适应到正常组织培养细胞的报告,亦没有见到有关病毒在正常细胞中的电子显微镜下形态学的研究报道。我们将EHF病毒在人二倍体细胞内繁殖传代并进行了病毒形态学研究。

在2BS细胞中,EHF病毒为球形及椭圆形,有致密和疏松的两种颗粒,直径分别为110~150毫微米和120~160毫微米,偶有80~100毫微米的颗粒。最大的病毒颗粒在200毫微米左右,McCormick等<sup>[3]</sup>报道KHF与我国的EHF有一致的抗原性。他们把用负染色法观察到的有包膜的85~115毫微米的KHF病毒归属于布尼亚病毒,我们在2BS细胞中看到的EHF病毒比KHF病毒颗粒大的多。

我国的新疆出血热(XHF),克里米亚-刚果出血热(CCHF)、裂谷热(RVF)<sup>[3,5,6]</sup>都是布尼亚科有出血疾患的病毒病。这些病毒都对小白鼠乳鼠致病,EHF至今尚没有敏感动物,而且抗原性上与上述病毒完全不同。形态学上CCHF及XHF病毒均为85~105毫微米<sup>[7]</sup>。属于布尼亚科的其它病毒如Murray裂谷热(MVE)、加利福尼亚脑炎<sup>[8]</sup>Uukuniemi病毒<sup>[9]</sup>大小均不超过100毫微米。

Kozuch等<sup>[10]</sup>从黄啮姬鼠(*Apodemus flavicollis*)、普通田鼠(*Microtus arvalis*)、欧洲棕背鼯(*Clethrionomys glareolus*)、巢鼠(*Micromys minutus*)等鼠类及蜚中<sup>[11]</sup>分离出的Uukuniemi病毒对小白鼠乳鼠脑致病,在抗原性上与EHF也没有相关性,不但可从特

异的免疫荧光反应上与黑线姬鼠肺分离出的EHF相区别,而且病毒颗粒形态大小也显然不同。

目前对布尼亚病毒形态研究还不够深入。EHF病毒有包膜,可见规则表面突起,在2BS细胞中病毒有细胞膜芽生及空泡中芽生等方式,这与布尼亚科病毒类似,但形态结构、大小等与典型布尼亚病毒有差异。

### 摘 要

本文报道了EHF病毒适应人胚肺二倍体细胞的电镜形态。EHF病毒在细胞质内,有细胞膜及空泡芽生形式。在感染细胞内外都看到病毒颗粒,为球形及椭圆形有包膜的病毒,有致密和疏松两种颗粒,直径分别为110~150毫微米和120~160毫微米,偶见80~100毫微米的病毒颗粒,最大的可达200毫微米左右。本病毒比布尼亚病毒大的多。因此与典型布尼亚病毒既有类似也有差异。

### ABSTRACT

EHF virus was detected by electron microscopy in ultrathin section of diploid cell lines of human embryonic lung (2BS). It appeared in spherical or elliptic form with envelope both intra and extracellularly. Particles localizing in cytoplasm and budding from cytoplasmic membrane and vesicles were observed. Two types of virions were found. The smaller type particles (110-150 nm in diameter) had a markedly electron-dense contents and the bigger type particles (120-160 nm) were of moderate electron density. The maximum particles reached about 200 nm and the minute one ranged from 80-100 nm occasionally. EHF virus was much bigger than common Bunyavirus. It was similar to classical Bunyavirus in some respects, but quite different from Bunyavirus in other respects.

### 参 考 文 献

1. 严玉辰等: 中国医学科学院学报, 4(1): 67, 1982。
2. 严玉辰等: 中华流行病学杂志, 3(4): 197, 1982。
3. McCormick JB et al: Lancet, 1: 765, 1982。
4. White JD et al: Lancet, 1: 768, 1982。
5. 严玉辰等: 中华流行病学杂志, 4(3): 129, 1983。
6. 严玉辰等: 中华流行病学杂志, 4(3): 132, 1983。
7. 李 烽等: 中华流行病学杂志, 4(3): 135, 1983。
8. Wong KK et al: Electron Microscopy, 12: 380, 1978。



9. Von Bonsdorff CH et al: Acta Virol, 14: 109, 1975.  
 10. Kozuch O et al: Acta Virol, 14: 163, 1970,

11. Kolmen JM et al: Acta Virol, 10: 171, 1966.  
 (本文承蒙高守一教授审阅, 深表谢意)

## 介绍一种车载超低容量喷雾机

军事医学科学院微生物流行病学研究所 董桂蕃

美国Micro-Gen公司近年来制造了一种新式车载超低容量喷雾机, 型号Micro-GenED2-20A。该机由汽油机(单缸四冲程)、空气压缩机、电动机、柱塞泵、计量泵、输液系统、喷咀(2个)及控制系统等部分组成。全机重158公斤, 外形尺寸为825×650×625(毫米)。汽油机11马力, 以电启动, 12伏蓄电池提供电源。该机特点: 结构紧凑, 雾化性能良好, 操作方便, 工作效率高。与原有一些车载喷雾机相比有许多优点: 1. 不需加压的药箱, 可利用杀虫剂原包装桶; 2. 采用正向移动泵的计量系统, 取消司机室内杀虫剂输送管, 杀虫剂流量与正常粘度变化无关, 不需校正因温度变化而引起杀虫剂粘度的变化; 3. 控制系统安置在司机室内, 仪表盘上有启动开关, 流量控制旋钮, 节流阀控制开关, 计量泵开关及流量数字显示器。工作人员在司机室内操作, 即可直接监视杀虫剂的实际流量。在压力降至预定值以下时, 可自动报警; 在压力降至最低点时, 计量泵停止输出杀虫剂, 以保证喷雾在正常条件下进行。

该机是为大规模室外防治蚊、蝇和其他飞翔昆虫而设计的, 产生的雾粒在20微米以下者占90%以上。适于城市或路面平整的地区使用, 亦可用于大建筑杀虫。安装在汽车上使用, 作业时一般车速5~10英里/小时(8~16公里/小时), 压力4~5磅/时<sup>2</sup>, 流量8盎司/分(约237毫升/分, 用于粘度较小的杀虫剂), 或压力5~6磅/时<sup>2</sup>, 流量5盎司/分(约148毫升/分, 用于粘度较大的杀虫剂)。该机双喷咀方向角度可调, 根据需要用定位置, 如向上30°或45°, 喷幅宽度根据作业区建筑物和植被密度及风向决定, 在城市地区不超过300呎; 而在十分开阔的农村或草原, 宽度可达600呎或1英里。

Tapley等1979年在田间作了一系列笼蚊试验, 车速16公里/小时, 压力5磅/时<sup>2</sup>, 喷洒25%恶虫威(bendiocarb)超低容量制剂, 流量74毫升/分, 喷雾容量中值直径(VMD)为10微米。试验的蚊种有盐泽伊蚊(Aedes sollicitus)、埃及伊蚊(Ae. aegypti)、带喙伊蚊(Ae. taeniorhynchus)、尖音库蚊(Culex pipiens)和淡色按蚊(Anopheles albimanus)等, 距车行线50米和100米处笼蚊死亡率一般均达90~100%。

1980年我所进口一台Micro-Gen ED'2-20A喷雾机, 于1981年7~8月在营区内进行了实验灭蚊, 一名技术人员坐在司机室内操作, 50分钟处理面积150亩, 10~50米笼蚊死亡率为84~100%, 喷后当天和喷后一天室外蚊虫密度下降率可达82~86%。与背负式或手提式喷雾机相比功效高, 节省人力并保证操作人员免受杀虫剂污染。但道路和建筑物情况对喷雾效果有重要影响。

说明: 本文参考Micro-Gen ED2-20A型喷雾机说明书和Mosquito News, 40(4): 560, 该机出售单位和地址为: MICRO-GEN EQUIPMENT CORP. P.O. Box 32784, 8127 Vidor Drive San Antonio, Texas 78216(512)349~2711

### 本刊1983年第二期更正

页	栏	行	误	正
68	左	倒7	化率标	标化率
87	右	倒6	55.56%	92.86%
87	"	"	92.86%	55.56%
88	"	2	(HAI)有	(HAI)
88	"	3	接触者都	接触者都有
88	"	4	麻滴疹	麻疹
128	"	倒1	湖湖省	湖南省



# 流行性出血热病毒的形态研究 ( I )

(正文见137页)

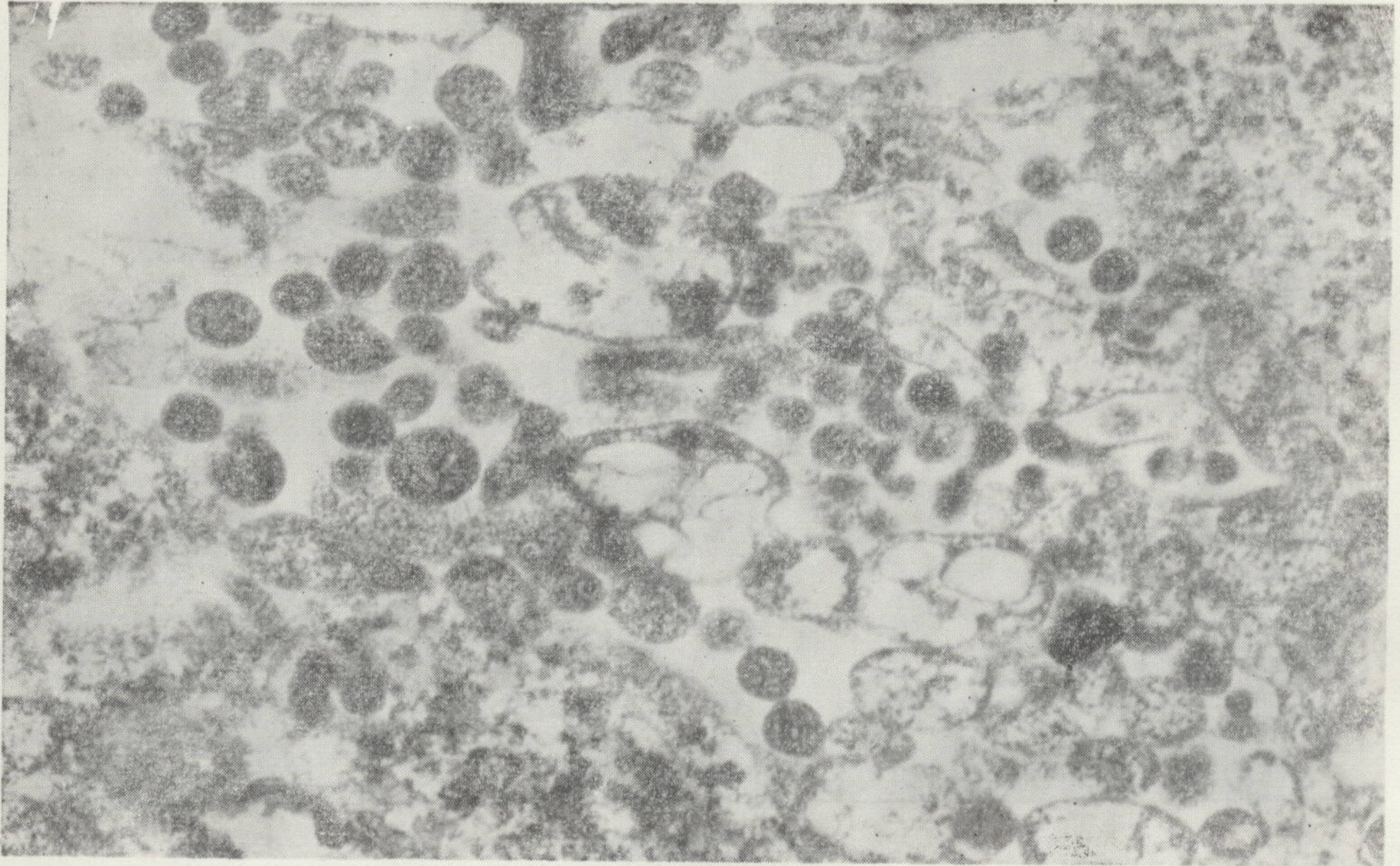


图1 EHF病毒感染2BS细胞的超薄切片。胞浆中的病毒颗粒  $\times 36,400$

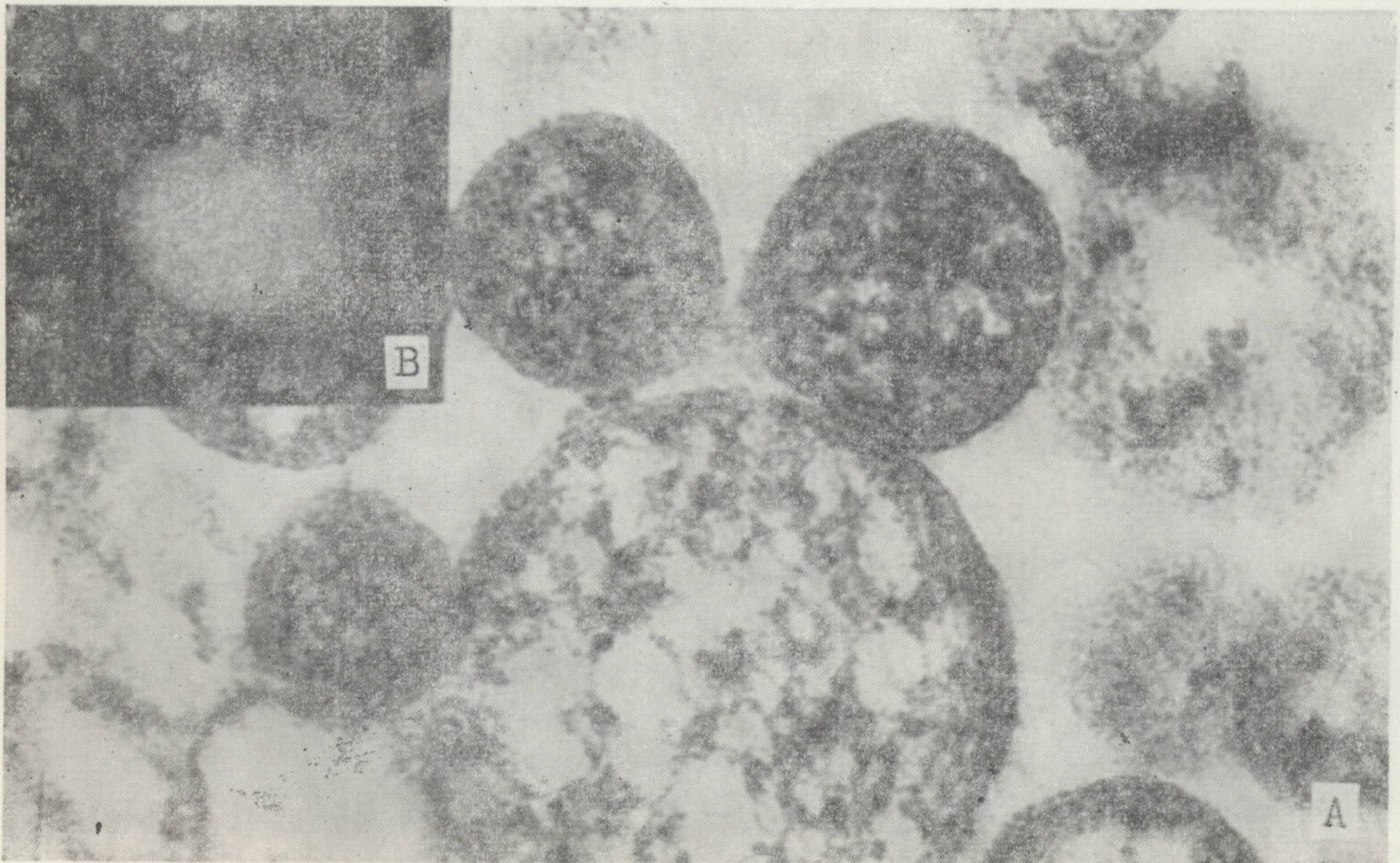


图2 A.细胞质中的EHF病毒颗粒  $\times 79,000$  B. EHF病毒负染色的电镜图像



(正文见137页)

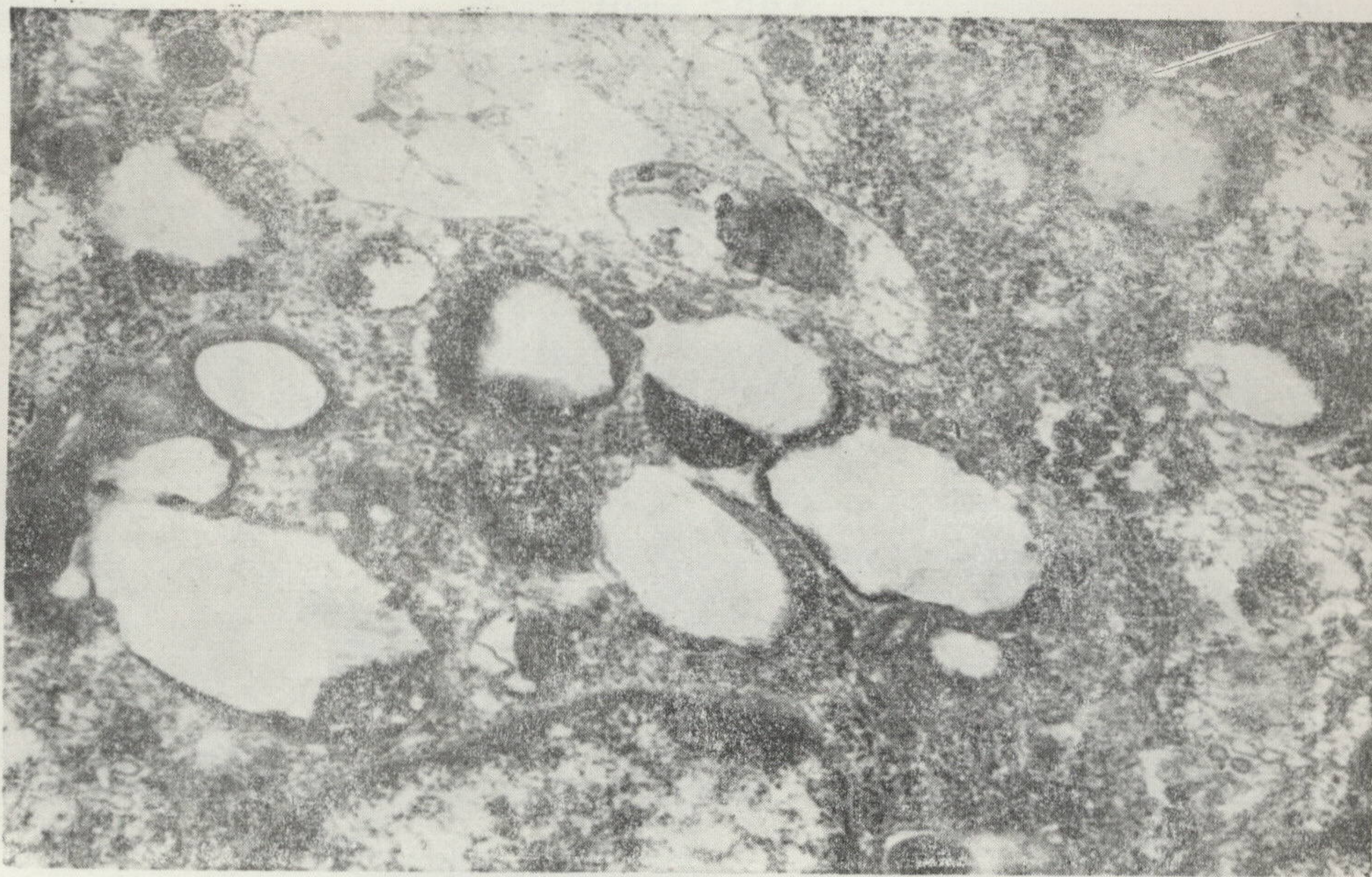


图3 2BS细胞感染EHF病毒后第5天,在细胞质的空泡中可见到新月状、马蹄形等集聚的病毒蛋白分子  $\times 36,400$

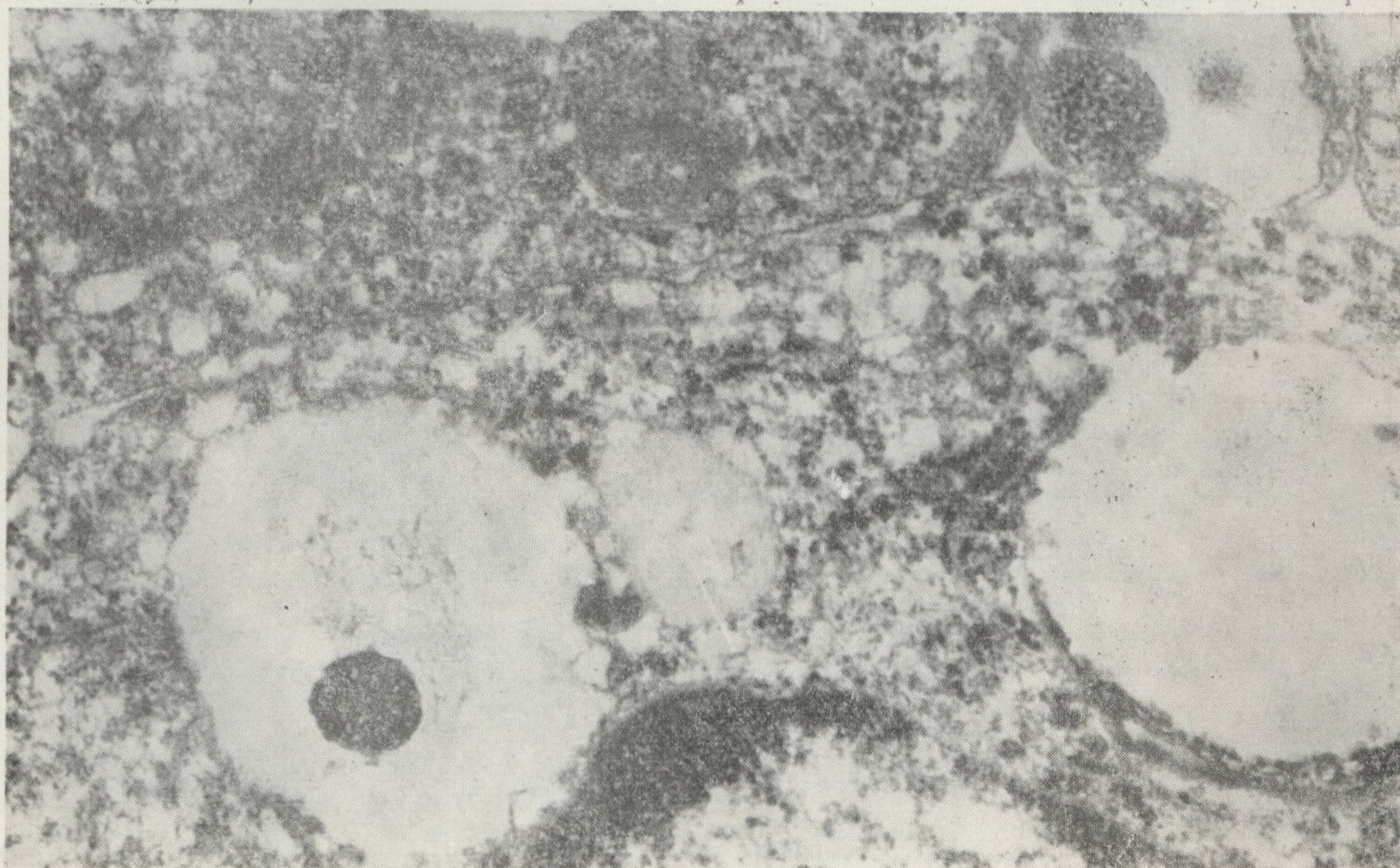


图4 2BS细胞质空泡中的病毒颗粒  $\times 80,000$



(正文见137页)

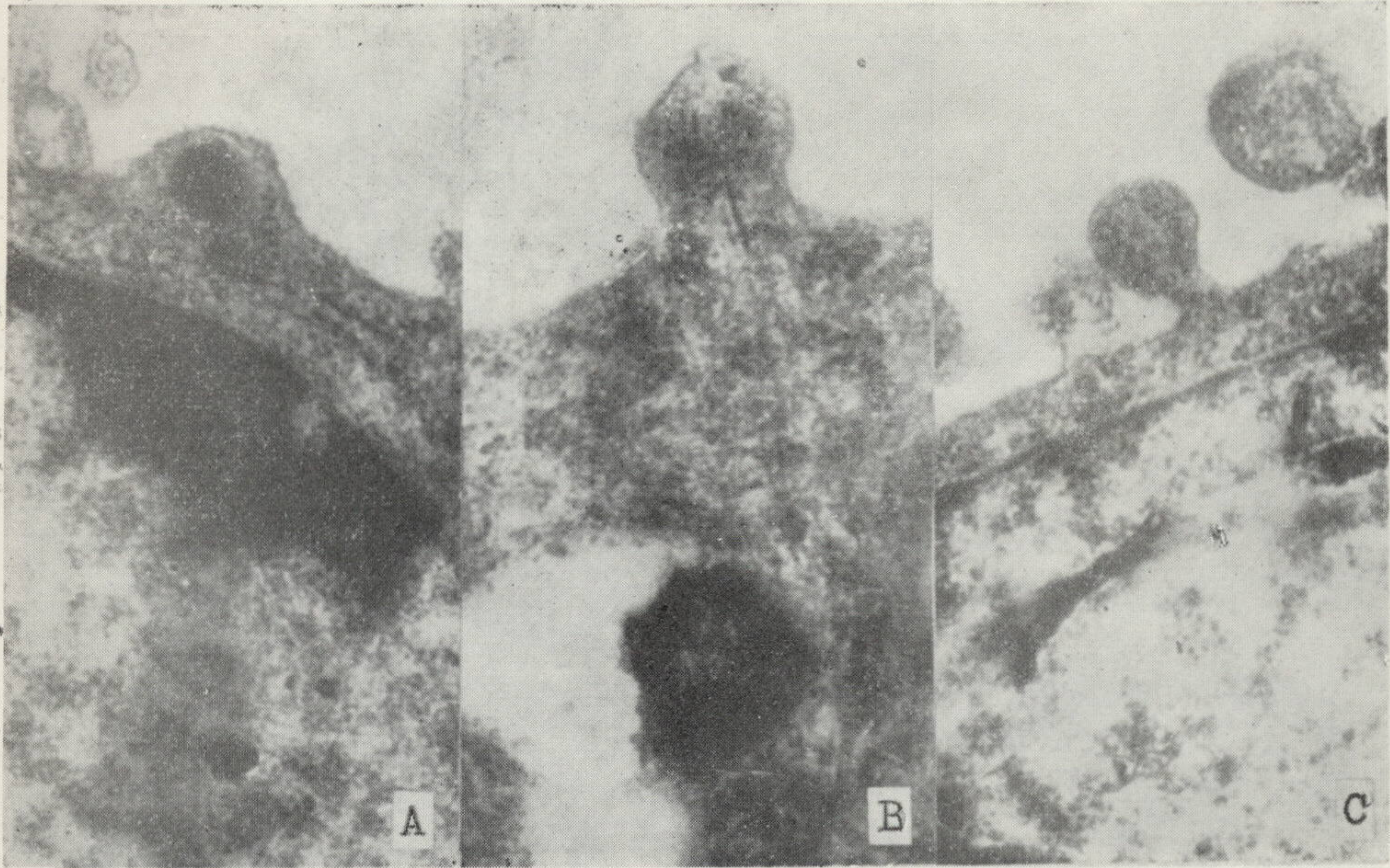


图5 A.B.C.EHF病毒在2BS细胞的细胞膜发芽繁殖 ×36,400

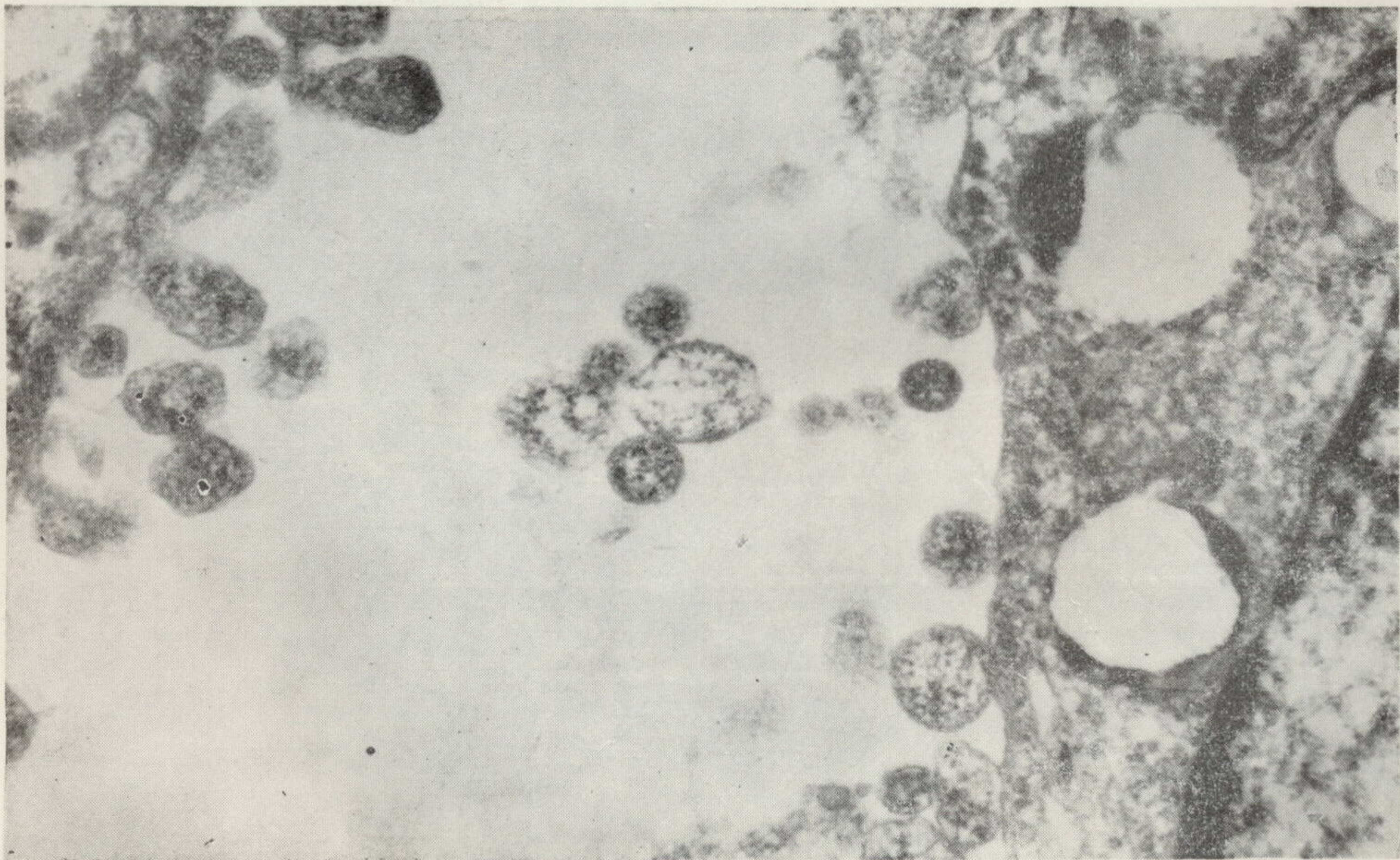


图6 细胞外的EHF病毒颗粒