

新城疫病毒红细胞凝集性的研究

骆春阳 刘立人 金亚成

(江苏农学院牧医系,扬州)

红细胞凝集和红细胞凝集抑制试验广泛应用于鸡新城疫的诊断和监测^[1,2,3]。为了提高试验的灵敏性,我们选了9株新城疫病毒(NDV),作红细胞凝集性、血凝解离速度以及温度、福尔马林和甘油对病毒红细胞凝集性的影响等试验,现报告如下。

材料和方法

1. 新城疫病毒株: II、III、IV系为弱毒疫苗病毒株; I系按其毒力属于中毒株; 宁波、南京、常州、扬州A和B病毒株均系从上述地区的病鸡分离到的强毒株。试验前将毒株按常规法接种鸡胚,然后采绒毛尿囊液为病毒液。测定对鸡红细胞的凝集滴度,并用新城疫抗血清测其凝集抑制滴度,以证明其确为新城疫病毒,保存供试验用。

2. 红细胞悬浮液: 采鸡、鸭、鹅、豚鼠、小白

鼠、水牛、黄牛、奶牛、驴、猪、绵羊、山羊、兔13种动物的血,按常规法分别制备1%的红细胞悬浮液。

3. 福尔马林和甘油均系南京化学试剂厂制。

4. 红细胞凝集性的测定: 将13种动物的红细胞悬浮液与9株病毒液按常规法,分别作血凝试验,读出各病毒株对于各种动物红细胞的凝集滴度,即为各病毒株的血凝谱。

5. 血凝解离速度: 在4℃内作鸡红细胞凝集试验,15分钟记出红细胞凝集滴度,以后每小时记录一次,直至血凝解离(即红细胞全部分散),记录各病毒株血凝解离的时间。24小时后将红细胞重新悬浮,再于30分钟、1小时、2小时检查血凝滴度,并记录血凝再解离的时间。

6. 病毒血凝素的热稳定性: 将盛有病毒液的试管,置入56℃水浴箱内,经5、15、30、60、

结 果

90、120分钟处理，取出冷却，用1%鸡红细胞悬液测定经过处理的病毒液的血凝滴度。以不加温，置于室温，试验开始和结束各测定血凝滴度一次，作为对照。

7. 福尔马林和甘油对病毒血凝性的影响：病毒液按0.1%加入福尔马林，混匀，室温下作用3小时后，分别按常规法作鸡红细胞血凝试验，以未处理的病毒液作对照试验。

甘油对病毒血凝性的影响，是用病毒液加入等量甘油处理，其余同上。

一、9株病毒株血凝谱测定(见表1)

9株病毒对鸡、鸭、鹅的红细胞都出现凝集，血凝滴度都较高，而鸡的红细胞最好，血凝滴度和抗血清的血凝抑制滴度都较高且较一致。豚鼠、小白鼠、水牛的红细胞也都能被各株病毒凝集，但凝集滴度低。黄牛、奶牛、驴的红细胞都有一部分病毒株不能凝集。猪、绵羊、山羊的红细胞都不被凝集。家兔红细胞的试验结

表1 9株新城疫病毒对13种动物红细胞的血凝谱

滴 度 病 毒 株 / 动 物	鸡	鸭	鹅	豚 鼠	小 白 鼠	水 牛	黄 牛	奶 牛	驴	猪	绵 羊	山 羊	家 兔
I 系	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	土
II 系	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	土
III 系	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	土
IV 系	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	土
扬 州 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	土
南 京	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	土
宁 波	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	土
扬 州 B	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	土
常 州	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	土

注：“+”红细胞凝集，数字为血凝滴度。

“-”红细胞不凝集。

“土”包括对照试验的各管都呈伞状凝集，无法判定。

果都难以判定。

从表1结果看，对黄牛红细胞有2个强毒株不凝集，有3个能凝集；对奶牛和驴的红细胞有3个弱毒株能凝集，一个强毒株能凝集，而I系中毒株则不能凝集。各种动物红细胞的血凝滴度，强毒株和弱毒株之间互有高低。试验结果表明新城疫病毒株的红细胞血凝谱和血凝滴度与毒力没有相关性。

二、血凝解离速度的测定

在4℃内，I系、IV系病毒株引起的血凝经2小时解离，II系、III系、南京、宁波、扬州B、常州等病毒株引起的血凝均在6小时解离，扬州A经22小时解离。

凝集的红细胞于24小时后重新悬浮，经30分钟检查，除常州病毒株不出现血凝外，其他病毒株都有低滴度的血凝。血凝再解离的时间，

表 2 病毒株在不同作用时间内血凝性的变化

滴 度 病 毒 株	时 间	56°C 水浴时间(分)						对 照* (不加温)
		5	15	30	60	90	120	
I 系	1:10	—	—	—	—	—	—	1:320
II 系	—	—	—	—	—	—	—	1:160
III 系	—	—	—	—	—	—	—	1:160
IV 系	—	—	—	—	—	—	—	1:640
扬 州 A	1:160	1:20	1:5	—	—	—	—	1:320
南 京	1:40	1:20	—	—	—	—	—	1:80
宁 波	1:40	1:20	—	—	—	—	—	1:160
扬 州 B	1:80	1:20	1:10	—	—	—	—	1:160
常 州	1:160	1:40	1:5	—	—	—	—	1:160

* 试验开始时和结束时测得的血凝滴度，2次无明显差异。

各病毒株也不同，扬州 B 病毒株在 1 小时内，IV 系、扬州 A 和宁波等病毒株在 2 小时内，而 I 系、II 系、III 系、南京等病毒株到 2 小时还未解离。试验结果未发现血凝解离速度与病毒株毒力之间有何关系。

三、病毒血凝素的热稳定性测定的结果(表2)。

于 56°C 内，病毒株 I 系处理 5 分钟尚有 1:10 的血凝滴度；II 系、III 系、IV 系等处理 5 分钟血凝性消失；其余各株随处理时间的延长血凝性逐渐减弱，至 60 分钟，血凝性完全消失。

表 2 结果表明，56°C 处理时，病毒的血凝性在 60 分钟内全部消失，其消失的快慢与病毒液的血凝滴度无关，而与病毒株的毒力有一定关系，II 系、III 系、IV 系等弱毒株在 5 分钟内血凝性消失，I 系中毒株 15 分钟内消失，5 个强毒株都在 30 分钟或 60 分钟内消失；也就是，强毒株对 56°C 的耐受性强，而弱毒株敏感，中毒株则介于二者之间。

四、福尔马林、甘油对病毒株血凝性的影响

福尔马林的试验结果与对照比较，除 1 株外，其余各株的血凝滴度都较对照低，平均滴度差异显著 ($P < 0.01$)。50% 甘油的试验结果与对照比较，有 4 个病毒株略高，5 株与对照相同，平均滴度差异不显著 ($P > 0.05$) (表 3)。

表 3 病毒液加福尔马林、甘油处理后血凝性的变化

滴 度 病 毒 株	处 理	福尔马林 处理病毒液的血凝 滴度	甘油处理 病毒液的血凝 滴度	对 照
I 系		1:10	1:320	1:320
II 系		1:10	1:320	1:160
III 系		1:80	1:320	1:160
IV 系		1:320	1:1280	1:640
扬 州 A		1:40	1:320	1:320
南 京		1:80	1:80	1:80
宁 波		1:40	1:320	1:160
扬 州 B		1:80	1:160	1:160
常 州		1:80	1:160	1:160

可见新城疫病毒在 0.1% 福尔马林的作用下，血凝性明显减弱；而在 50% 甘油的作用下，则没有变化，或有所提高。

讨 论

1. 血凝试验和血凝抑制试验是诊断、监测鸡新城疫的常规方法。试验结果表明：新城疫各病毒株对鸡的红细胞凝集滴度较高，各病毒株的差异较小；对鸭、鹅红细胞凝集滴度次于鸡，各强毒株的差异不大，可代鸡红细胞作诊断之用。对豚鼠、小白鼠、水牛的红细胞凝集滴度太低，各毒株差异较大；黄牛、奶牛、驴的红细胞有些病毒株不能凝集；家兔红细胞凝集反应无法判定；猪、绵羊、山羊的红细胞都不被凝集；这

(下转第 214 页)

(上接第221页)

些动物的红细胞都不宜用于新城疫诊断。

2. 病毒液加等量甘油处理后，血凝滴度与对照试验比较无变化或略高，表明甘油对病毒的血凝性有稳定作用和减慢血凝解离的作用，有助于获得比较确实的血凝滴度和血清的血凝抑制滴度。病毒液加 0.1% 福尔马林处理，血凝滴度比对照低，但可以避免活病毒的播散。

3. 试验结果表明病毒株血凝素的热稳定性与病毒株毒力之间有一定的关系，弱毒株血凝

素的热稳定性差，56℃处理 5 分钟血凝性消失；强毒株血凝素的热稳定性较强，经 30 分钟至 60 分钟才被破坏；中毒株介于二者之间，经 15 分钟血凝性消失。病毒株血凝素的热稳定性的这一差异，可供病毒株毒力测定的参考。

参 考 文 献

- [1] 唐桂运：中国兽医杂志，6：25—31，1979。
- [2] 胡家骥、朱延永：中国兽医杂志，9：1—4，1979。
- [3] Yachida, S. etc.: *Avian Disease*, 14: 542—549, 1970.